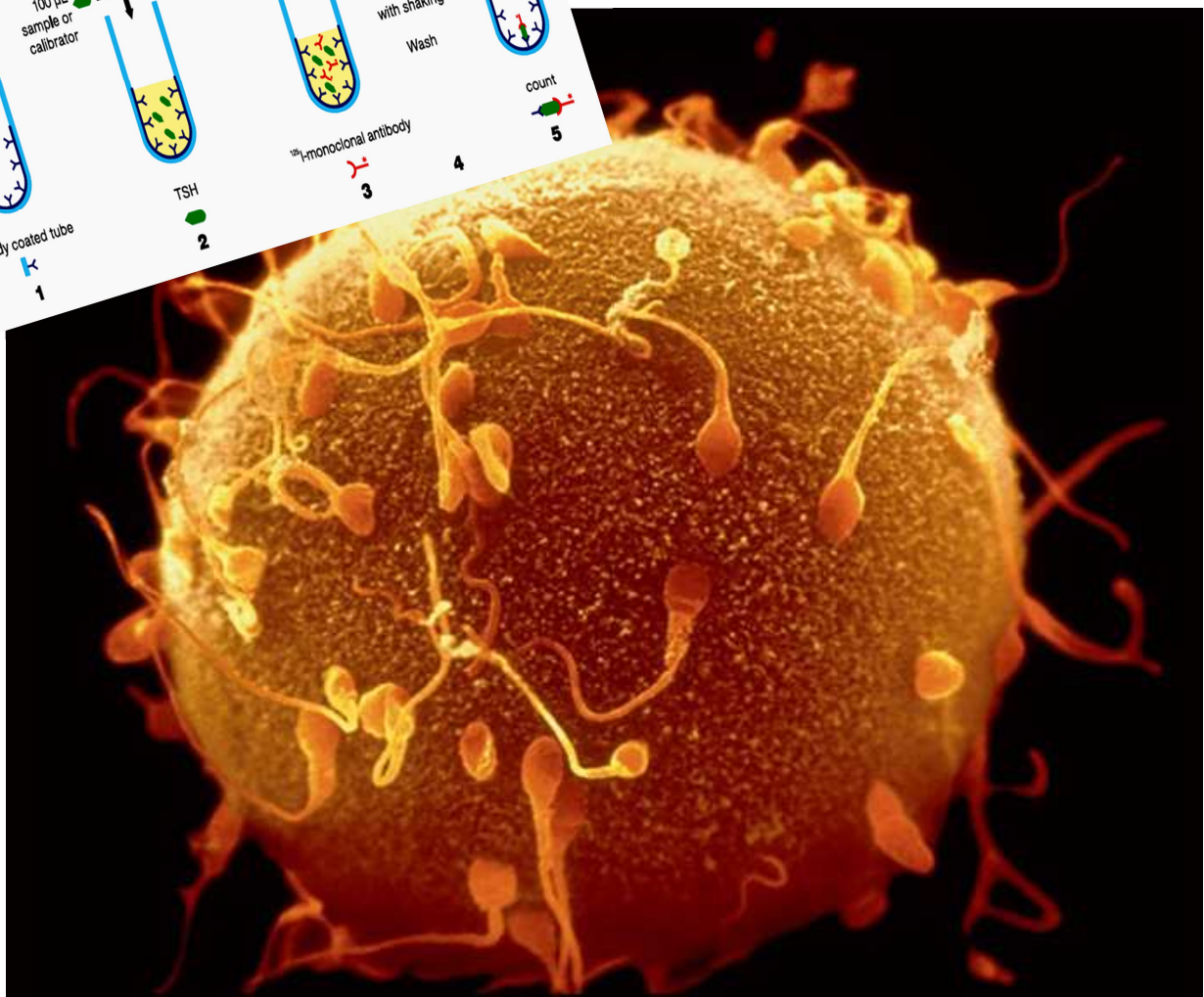
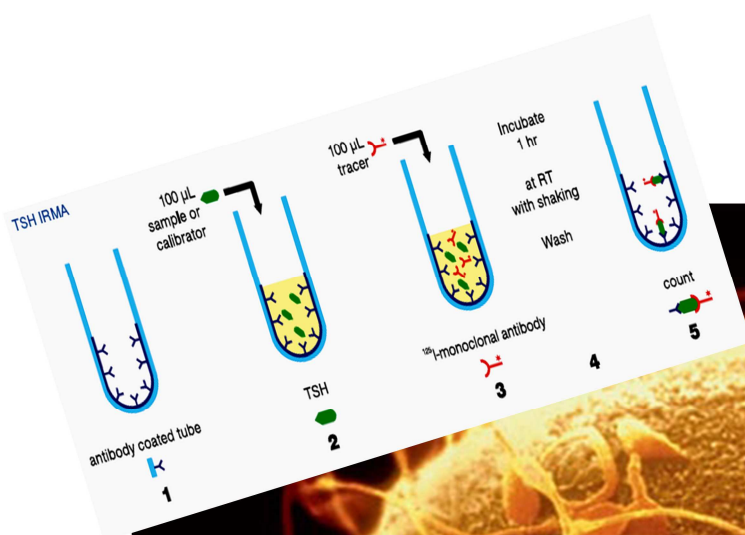


Využití biomarkerů v gynekologii a reprodukční endokrinologii

Marie Karlíková a kolektiv autorů



© Marie Karlíková, 2012

This edition © Tribun EU, 2012

ISBN 978-80-263-0410-4

Předmluva

Tato elektronická publikace vznikla jako sborník přednášek vzdělávacího kurzu „Využití imunoanalýzy v gynekologii a reprodukční endokrinologii“, který pořádala Centrální radioizotopová laboratoř Lékařské fakulty UK v Plzni v rámci projektu strukturálních fondů EU (projekt OPVK CZ1.07./2.3.00/09.0142) v roce 2011. Doplněkem je kapitola 4 – Rejstřík biomarkerů, přehled proteinových a dalších biomarkerů, jejich vlastností, funkcí, referenčních hodnot a interpretací jejich stanovení v lidském materiálu (nejčastěji krevní plazmě či séru). Společnými rysy těchto biomarkerů jsou kromě využití v gynekologii a reprodukční endokrinologii a výzkumu s nimi spojeném i možnost jejich stanovení běžnými i méně běžnými imunoanalytickými metodami. Publikace byla vytvořena za podpory projektů OPVK CZ1.07./2.3.00/09.0142 a CZ1.07./2.3.00/09.0182.

Pro lepší orientaci jsou názvy či zkratky některých biomarkerů označeny [modře](#) a při kliknutí přeskočí čtenář na podrobný popis tohoto biomarkeru. Jedná se o biomarkery v přímém vztahu k reprodukční endokrinologii, stanovované imunoanalytickými metodami.

Věříme, že zde naleznete mnoho zajímavých a přínosných informací. Pokud máte pocit, že jsme opomněli něco podstatného, či se s námi chcete podělit o svůj názor – napište nám! Těšíme se na Vaše reakce.

V Plzni 2012

Marie Karlíková

editorka

karlikovam@fnplzen.cz

Autoři

Mgr. Petr Dejmek

Klinika dětí a dorostu, UK 3. Lékařská fakulta a FN Královské Vinohrady Praha 10

MUDr. Radka Fuchsová

Laboratoř imunochemické diagnostiky, ONM, LF UK a FN Plzeň

MUDr. Eliška Hrdonková

Gynekologicko-porodnická klinika, LF UK a FN Plzeň

RNDr. Marie Karlíková, Ph.D.

Centrální radioizotopová laboratoř LF UK Plzeň

Mgr. Radek Kučera, Ph.D.

Centrální radioizotopová laboratoř LF UK Plzeň a Beckman Coulter ČR s.r.o.

RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Centrální radioizotopová laboratoř, LF UK Plzeň

prof. MUDr. RNDr. Luboslav Stárka, DrSc.

Endokrinologický ústav, Praha

MUDr. Ivan Šubrt

Ústav lékařské genetiky, LF UK a FN Plzeň

prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.

Centrální radioizotopová laboratoř a II. interní klinika, LF UK a FN Plzeň

prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc.

Gynekologicko-porodnická klinika, Laboratoř reprodukční imunologie, LF UK a FN Plzeň

doc. MUDr. František Votava, Ph.D.

Klinika dětí a dorostu, UK 3. Lékařská fakulta a FN Královské Vinohrady Praha 10

prof. MUDr. Václav Zamrazil, DrSc.

Endokrinologický ústav, Praha

Editorka

RNDr. Marie Karlíková, Ph.D.

Laboratoř imunochemické diagnostiky, ONM, LF UK a FN Plzeň

Obsah

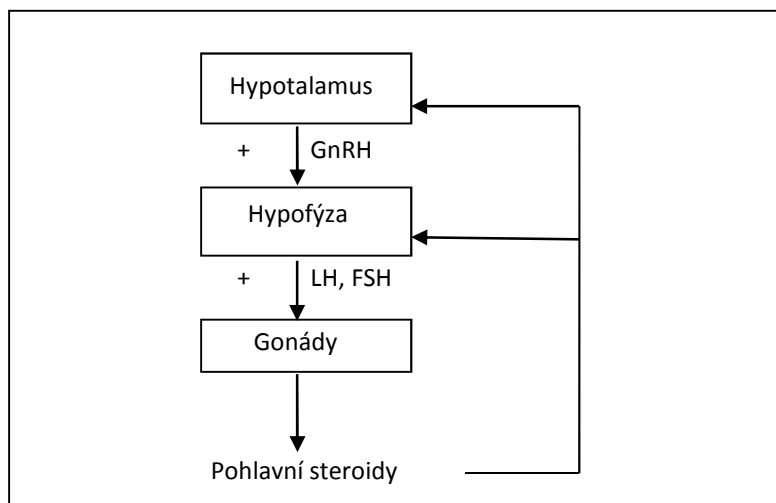
Předmluva.....	2
Autoři.....	3
Obsah.....	4
1. FERTILITA A JEJÍ PORUCHY	6
1.1 Fertilita a její poruchy - úvod	6
1.2 Menstruační cyklus a poruchy menstruačního cyklu	7
1.2.1 Fáze menstruačního cyklu a hormonální změny.....	7
1.2.2 Poruchy menstruačního cyklu.....	9
1.3 Hormonální příčiny neplodnosti u žen.....	15
1.3.1 Hypoandrogenémie	15
1.3.2 Hyperandrogenémie a syndrom polycystických ovarií (PCOS)	24
1.3.3 Štítná žláza a neplodnost	29
1.4 Imunologické vyšetření při snížené plodnosti	33
1.4.1 Indikace k vyšetření.....	34
1.4.2 Laboratorní metody	34
1.4.3 Možnosti vyšetření.....	34
1.4.4 Závěr a perspektivy v reprodukční imunologii	37
1.5 In vitro fertilizace	40
1.5.1 IVF	40
1.5.2 IVF – jednotlivé fáze	42
1.5.3 IVF protokoly.....	42
1.5.4 Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS).....	44
2. TĚHOTENSTVÍ	45
2.1 Hormonální změny v těhotenství	45
2.1.1 Celková adaptace organismu v těhotenství	45
2.2 Poruchy štítné žlázy v těhotenství.....	55
2.2.1 Regulace funkce štítné žlázy v těhotenství	55
2.2.2 Následky porušené funkce štítné žlázy v těhotenství	57
2.2.3 Hodnocení funkce štítné žlázy v graviditě.....	58
2.2.4 Laboratorní diagnostika poruch štítné žlázy	59
2.2.5 Hodnocení aktivity autoimunitního procesu u tyreopatií.....	60
2.2.6 Saturace jodem v těhotenství	61
2.2.7 Otázka screeningu tyreopatií v graviditě	62
2.3 Prevence vývojových a metabolických vad.....	64
2.3.1 Prenatální screening Downova syndromu a vrozených vývojových vad plodu (VVV)	64
2.3.2 Novorozenecký screening v České republice	73
2.3.3 Využití multiplexové technologie xMAP v prenatální a novorozenecké diagnostice.....	85

3. MENOPAUZA	89
3.1 Hormonální změny v menopauze	89
3.2 Poruchy štítné žlázy v menopauze.....	93
4. REJSTRÍK BIOMARKERŮ	98
17 α –hydroxyprogesteron (17 - OHP)	98
Aktiviny	102
Alfa–fetoprotein (AFP)	104
Androstendion (AD)	107
Antimülleriánský hormon (AMH)	110
DHEA/DHEAS	114
Dihydrotestosteron (DHT)	118
Estrogeny	120
Estradiol (E2)	120
Estriol (E3).....	124
Gonadotropiny (FSH a LH)	127
Choriogonadotropin (hCG) a volná β -podjednotka (f β hCG).....	131
Inhibiny	135
Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP A)	140
Progesteron	143
Prolaktin (PRL)	146
Sexuální hormony vázající globulin (SHBG)	150
Testosteron	153
Tyreoidální hormony.....	158
Tyreotropin (TSH).....	158
Hormony štítné žlázy (tyreoidální hormony)	161
Tyroxin (T4) a trijodtyronin (T3), volný T4 a volný T3	161
Tyreoidální autoprotilátky.....	165

1. FERTILITA A JEJÍ PORUCHY

1.1 Fertilita a její poruchy - úvod

Fertilita u žen i mužů je řízena endokrinním systémem, konkrétně homeostatickou rovnováhou mezi hypotalamem, hypofýzou a gonádami (Obrázek 1).



Obrázek 1. Hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osa (převzato z Wheeler 2005). GnRH – gonadotropin uvolňující hormon, **LH** = luteinizační hormon, **FSH** = folikuly stimulující hormon.

Neurony hypotalamu produkují peptid gonadotropin uvolňující hormon (GnRH, gonadoliberin). GnRH je portální krví transportován do adenohipofýzy, kde na gonadotropních buňkách aktivuje vlastní receptory (GnRHR) a stimuluje tvorbu gonadotropinů: [folikuly stimulujícího hormonu \(FSH\)](#) a [luteinizačního hormonu \(LH\)](#). GnRH je produkován v pulsech, jejichž síla a frekvence je u mužů konstantní, u žen se frekvence pulsů cyklicky mění a ovlivňuje proměnlivou produkci gonadotropinů během menstruačního cyklu. Také produkce FSH a LH probíhá v pulsech, pulsy FSH jsou méně výrazné než u LH. FSH hraje důležitou roli ve vývoji folikulů a v časně spermatogenezi, hlavní úlohou LH je indukce ovulace, luteinizace zralých folikulů a v gonádách stimulace produkce pohlavních steroidů (zejména estrogenů – [estradiolu](#) a [progesteronu](#)), androgenů (zejména [testosteronu](#)) a nesteroidních hormonů ([inhibinů](#), [aktivinů](#), folistatinu). Pohlavní steroidy i androgeny zpětnovazebně působí na hypotalamus a hypofýzu.

Vybraná literatura

Wheeler MJ. Infertility. In: The Immunoassay Handbook, Wild D (Ed.), 3rd Edition, Elsevier 2005, pp 565-579.

1.2 Menstruační cyklus a poruchy menstruačního cyklu

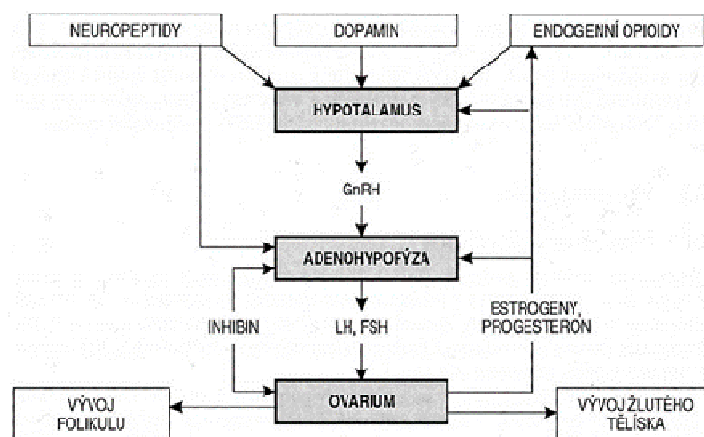
Eliška Hrdonková, Marie Karlíková

Menstruační cyklus označuje periodické fyziologické změny v těle ženy, které jsou nutné pro reprodukci. Menstruační cykly u žen se typicky vyskytují na měsíčním základě mezi pubertou a menopauzou.

Tabulka 1. Charakteristiky menstruačního cyklu

- délka cyklu průměrně 28 dní (24 – 36 dní)
- délka menstruačního krvácení průměrně 5 dní (2 – 8 dní)
- průměrná krevní ztráta 30 – 80 ml
- 1. den krvácení = 1. den menstruačního cyklu
- menarche (nástup menstruace) mezi 10. -15. rokem věku (průměrně 12 let a 7 měsíců)
- menopauza (ukončení menstruace) mezi 45. – 55. rokem věku

Regulace menstruačního cyklu je zajištěna hypotalamo-hypofyzo-ovariální osou (Obrázek 2). Podrobný popis je uveden v úvodu kapitoly 1.



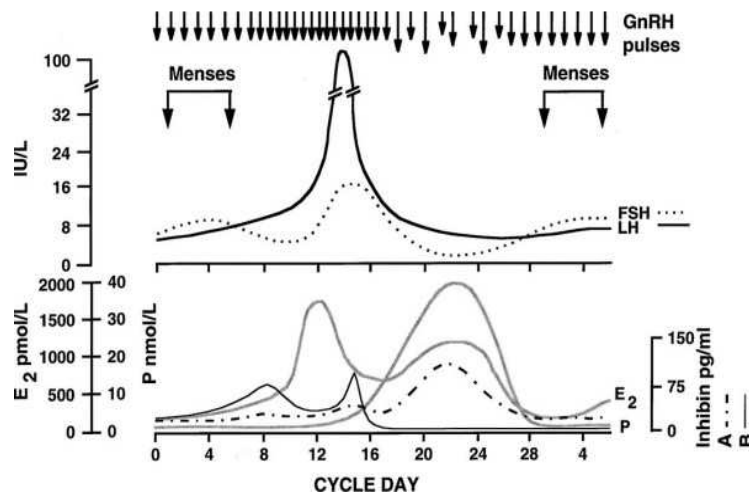
Obrázek 2. Hypotalamo-hypofyzo-ovariální osa (převzato z Cibula et al. 2002). GnRH – gonadotropin uvolňující hormon, LH = luteinizační hormon, FSH = folikuly stimulující hormon.

1.2.1 Fáze menstruačního cyklu a hormonální změny

V menstruačním cyklu se rozlišují se dvě fáze, oddělené ovulací:

- folikulární (růst a zrání folikulů) a
- luteální (přítomnost corpus luteum neboli žlutého tělíska),

Změny hladin hormonů během jednotlivých fází jsou znázorněny na obrázku 3 a shrnuty v tabulce 2, spolu se změnami v ovariích a děloze.



Obrázek 3: Grafické znázornění koncentrací hypofyzárních gonadotropinů (luteinizačního hormonu [LH], folikuly stimulujícího hormonu [FSH]; nahoře) a ovariálních steroidů (estradiolu [E₂], progesteronu [P], a inhibinů A a B; dole) v plazmě v průběhu menstruačního cyklu. Šipky nad obrázkem znázorňují pulzy sekrece GnRH z hypotalamu (převzato z Marshal a Reame 2010).

Tabulka 2. Hormonální změny během menstruačního cyklu

	Folikulární (12-16 dní)	ovulace	Luteální (12 – 15 dní)
FSH	<ul style="list-style-type: none"> na počátku vysoká hladina hladina přechodně klesá vlivem E₂, pak opět stoupá stimuluje ovarium k doplňování a zrání folikulů stimuluje produkci E₂ a inhibinu ve folikulech 	<ul style="list-style-type: none"> ovulační pík 	<ul style="list-style-type: none"> vlivem nárůstu produkce E₂, progesteronu a inhibinu A pokles hladiny na konci fáze vlivem poklesu produkce E₂, progesteronu a inhibinu A opětný nárůst hladiny iniciuje růst a zrání folikulů
LH	<ul style="list-style-type: none"> na počátku nízká hladina hladina stoupá (předovulační nárůst) stimuluje produkci E₂ (folikuly) 	<ul style="list-style-type: none"> ovulační pík 	<ul style="list-style-type: none"> pokles hladiny vlivem nárůstu produkce E₂, progesteronu a inhibinu A ke konci fáze nárůst hladiny vlivem poklesu produkce E₂, progesteronu a inhibinu A
Estradiol (E₂)	<ul style="list-style-type: none"> na počátku nízká hladina postupný přechodný vzestup vede k poklesu produkce FSH následný předovulační vzestup FSH vede k poklesu E₂ stimuluje růst endometria dozrání Graafova folikulu – vzestup 	<ul style="list-style-type: none"> ovulační pík 	<ul style="list-style-type: none"> Nárůst hladiny E₂ produkovaného v corpus luteum Trvale tlumí sekreci FSH a LH téměř po celou luteální fázi Po zániku corpus luteum pokles hladiny E₂ a následný vzestup FSH a LH
Progesteron (P)	<ul style="list-style-type: none"> Po celou dobu trvání folikulární fáze nízká hladina produkce ve folikulech 		<ul style="list-style-type: none"> Nárůst, produkce v corpus luteum Spolu s E₂ tlumí sekreci FSH a LH Po zániku corpus luteum pokles hladiny
Inhibiny	<ul style="list-style-type: none"> na počátku nízká hladina sekrece je stimulována FSH 		<ul style="list-style-type: none"> Nárůst hladiny vede k útlumu sekrece FSH po ovulačním píku Produkce v corpus luteum (inhibin A) Po zániku corpus luteum pokles hladiny
Ovaria	<ul style="list-style-type: none"> zrání folikulů stimuluje FSH tvorba E₂, progesteronu a inhibinů (ve folikulech) dozrání Graafova folikulu 	<ul style="list-style-type: none"> uvolnění oocyty z Graafova folikulu 	<ul style="list-style-type: none"> vytvoření corpus luteum z folikulu, produkce progesteronu a E₂ pokud není oplodnění, corpus luteum zaniká – pokles produkce progesteronu, E₂ a inhibinu A
Děloha	<ul style="list-style-type: none"> odlučování sliznice (menstruace) poté <u>proliferativní fáze</u> (růst endometria) 		<ul style="list-style-type: none"> <u>sekreční fáze</u> (progesteron připravuje endometrium k zahníždění vajíčka) vlivem poklesu progesteronu a E₂ rozpad endometria - menstruace

1.2.2 Poruchy menstruačního cyklu

Poruchy normálního menstruačního cyklu se manifestují jako

- **amenorea** (nepřítomnost krvácení)
- poruchy délky a intenzity krvácení (včetně dysfunkčního krvácení).

Tabulka 3. Typy poruch menstruačního cyklu

- **amenorea** - nepřítomnost menstruačního krvácení (s výjimkou těhotenství, laktace a přirozené menopauzy): **primární amenorea** (nezačne-li dívka menstruovat do 15. roku věku), **sekundární amenorea** (absence menstruace - více než 6 měsíců - po různě dlouhém období menstruačních cyklů)
- **polymenorea** – interval menstruačního krvácení je kratší než 22 dní (častěji je zkrácená folikulární fáze než luteální)
- **oligomenorea** – interval delší než 35dní
- **hypomenorea** – velmi slabé menstruační krvácení
- **hypermenorea** – silné a prodloužené krvácení (déle než 7-8 dní)
- **menoragie** – silné krvácení, ale kratší než 7 dní
- **dysfunkční děložní krvácení** (krvácení mimo menstruaci):
 - o **ovulační krvácení** – krvácení vlivem poklesu estradiolu před ovulací, trvá několik hodin až 2 dny, většinou slabé
 - o premenstruační nebo postmenstruační **špinění** (spotting)- nepravidelné děložní krvácení
 - o **metroragie** – krvácení mimo menstruační cyklus, při anovulačních cyklech (v adolescenci a v premenopauze)
 - o krvácení způsobené **nehormonální příčinou** (polypus korporis uteri, myoma submucosum, carcinoma, adenomyosis, ..)

Poruchou menstruačního cyklu bez zjevných příznaků je **anovulace**. Při anovulaci dochází k tvorbě folikulů, ale nedochází k uvolnění vajíčka z ovaria. Příčinou je nedokonalá funkce hypofýzy, ve které neprobíhá odpovídající tvorba gonadotropinů **FSH** a **LH**. Poměrně často bývá příčinou i zvýšená hladina **prolaktinu**.

Projevy se mohou kombinovat.

Příčiny poruch

Poruchy menstruačního cyklu jsou nejčastější projevy **dysfunkce některé z části hypotalamo-hypofyzo-ovariální osy**. Mohou ale mít i další příčiny (Tabulka 4).

Tabulka 4. Klasifikace amenorey (upraveno podle The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2006)

Klasifikace amenorey
Anatomický defekt (překážka výtoku)
Mülleriánská ageneze
Syndrom androgenní necitlivosti
Ashermanův syndrom
Jiné
Primární hypogonadismus
Gonadální dysgeneze
Abnormální karyotyp
Normální karyotyp
Gonadální ageneze
Enzymatická deficiencie
Předčasné ovariální selhání
Hypotalamické příčiny
Dysfunkční (stres, fyzická námaha, anorexia nervosa,...)
Jiné (infekce, nádory, izolovaný deficit gonadotropinů,...)
Hypofyzární příčiny
Nádory
Prolaktinom
Hypofyzární nádor secernující jiný hormon
Autoimunitní onemocnění
Jiné
Jiná endokrinní onemocnění
Adrenální onemocnění
Adrenální hyperplazie v dospělosti
Cushingův syndrom
Tyreoidální onemocnění
Hypotyreóza
Hypertyreóza
Ovariální tumory
Jiné
Poruchy sexuální diferenciacce
Multifaktoriální příčiny
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)

Diagnostika poruch menstruačního cyklu

Diagnostika poruch menstruačního cyklu zahrnuje: zjištění anamnézy, celkové a gynekologické vyšetření, případně ultrasonografické vyšetření dělohy a hormonální cytologie, **hormonální vyšetření z krve (tzv. hormonální profil)**.

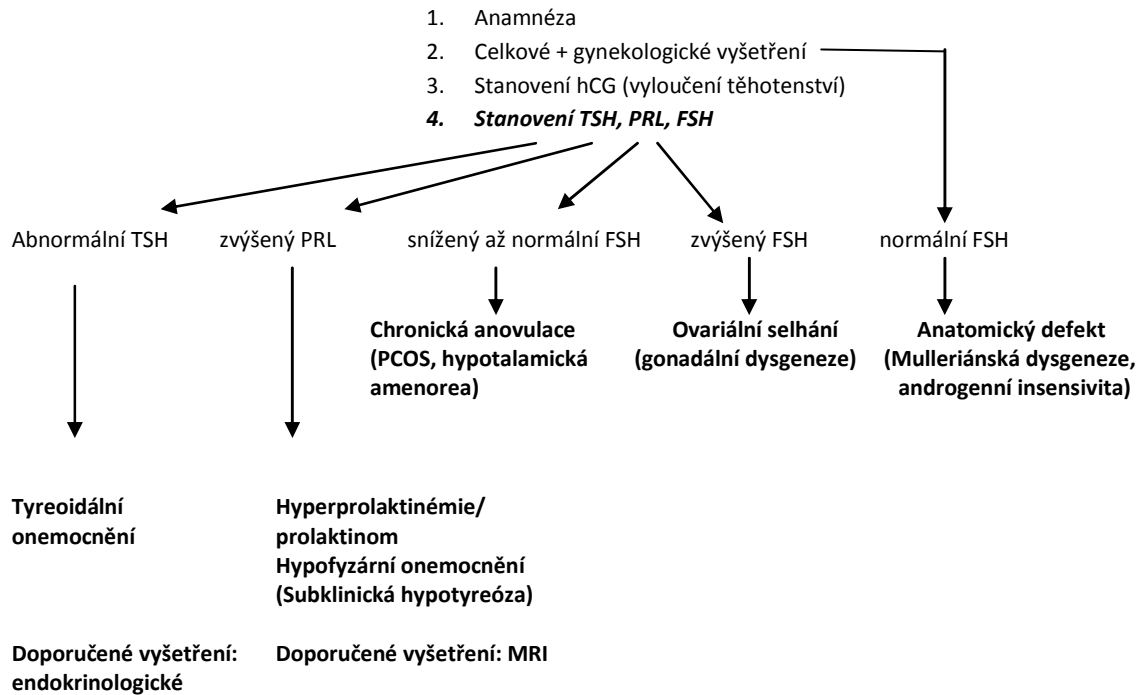
Vzorek krve pro hormonální vyšetření se odebírá ve specifický den menstruačního cyklu (Tabulka 5), při amenoree možno odebrat kdykoli. Při hormonální léčbě se odběr provádí 7. den po vysazení léků.

Existují různá schémata vyšetření hormonálního profilu (Zima et al. 2007, Wheeler et al. 2005), která zahrnují stanovení hormonů uvedených v tabulce 5.

Tabulka 5. Hormony vyšetřované v krvi při stanovení hormonálního profilu

Hormon	Význam stanovení	Odběr vzorku (den cyklu)
Gonadotropiny (FSH , LH)	Diferenciální diagnostika – odlišení centrální a periferní poruchy	3.,7.,14.,21.
Prolaktin	Zjištění hypofyzární poruchy	3.
Estradiol	Zjištění produkce estrogenů a rozlišení mezi nízkou produkcí estrogenů (např. u PCOS) a problémy genitálního traktu (např. anatomický defekt)	3.,7.,21.
dehydroepiandrosteron sulfát (DHEAS)	Zjištění adrenální poruchy	3.
Testosteron	Posouzení androgenizace	3.
SHBG	Zhodnocení, zda koncentrace SHBG neovlivňuje tkáňovou dostupnost testosteronu	3.
Progesteron	Zhodnocení funkce corpus luteum	21.
TSH , fT4	Zjištění tyreoidálního onemocnění	3.

Jednodušší, úspornější a méně zátěžovou variantou je **stanovení TSH, prolaktinu a FSH** z jednoho vzorku krve, kdy výsledky odhalí nejčastější příčiny amenorey (Obrázek 4). Poté je možné, na základě výsledků, cíleně doplnit další vyšetření hormonů pro upřesnění diagnózy.



Obrázek 4. Diagram navrhovaných vyšetření při amenoree (upraveno podle The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2006 a Master-Hunter a Heiman 2006). [hCG](#) = lidský choriogonadotropin, [TSH](#) = tyrotropin, [PRL](#) = prolaktin, [FSH](#) = folikuly stimulující hormon, PCOS = syndrom polycystických ovarií, MRI = magnetická rezonance.

Interpretace výsledků hormonálního profilu

Zvýšená hladina [TSH](#)

Indikuje **tyreoidální onemocnění**. Více kapitola 1.3.3.

Zvýšená hladina [prolaktinu](#)

Hyperprolaktinémie je spojená se sníženou koncentrací estrogenů a amenoreou nebo oligomenoreou. Po vyloučení primární hypotyreózy je třeba doplnit vyšetření MRI (CT) hypofýzy pro zjištění prolaktinomu či jiného nádoru hypofýzy.

Je-li hladina prolaktinu zvýšena do 20% referenčních hodnot laboratoře, je vhodné stanovení opakovat, neboť hladinu prolaktinu může zvyšovat celá řada faktorů.

Normální hladina [FSH](#)

Doprovází anatomický defekt, což je jedna z příčin primární amenorey a bývá diagnostikován již při celkovém a gynekologickém vyšetření. Nejčastěji se jedná o Mülleríánskou dysgenezi/agenezi nebo syndrom androgenní necitlivosti. Tyto dvě poruchy se rozliší pomocí **stanovení sérového [testosteronu](#)**, jehož hladina je vysoká v případě syndromu androgenní necitlivosti.

Normální nebo snížené hladiny [FSH](#)

V případě normální či snížené hladiny FSH je nejčastější diagnózou hypotalamická amenorea nebo syndrom polycystických ovarií (PCOS), viz kapitola 1.3.2.

Hypotalamická amenorea je typická hypoestrinní porucha, charakterizována proměnlivými nízkými pulsy GnRH, což způsobuje nízkou produkci gonadotropinů. Fyziologicky se vyskytuje prepubertálně, patologicky při velké ztrátě hmotnosti, v případě náročné fyzické aktivity (např. u sportovkyň), při dlouhodobém stresu apod. V těžkých případech je nízká hladina [estrogenů](#), FSH i [LH](#), podprůměrná hladina [prolaktinu](#), normální nebo nižší androgeny, progesteronový test je negativní, na USG jsou známky atrofického endometria. V lehčích případech jsou normální hladiny hormonů, progesteronový test je pozitivní.

U **syndromu polycystických ovarií (PCOS)** jsou pulsy GnRH neustále rychlé nebo zvýšené, což způsobuje zvýšenou syntézu LH, hyperandrogenismus a porušené zrání folikulů.

Stanovení koncentrace estradiolu nebo progesteronový test však není spolehlivým rozlišujícím ukazatelem mezi hypotalamickou amenoreou a PCOS. Obě poruchy mohou vykazovat nízkou či normální produkci estrogenů a může být vysoká falešná pozitivita i negativita. Spolehlivějším indikátorem je délka amenorey a klinické vyšetření.

Zvýšená hladina [FSH](#)

Zvýšená hladina FSH značí chybějící funkci ovarií. **Ovariální selhání** může být příčinou jak primární, tak sekundární amenorey. Je důsledkem gonadální dysgeneze (s normálním či abnormálním karyotypem) či gonadální ageneze.

Pro **předčasné ovariální selhání** je typický deficit estrogenů a zvýšené hladiny FSH a objevuje se před 40. rokem věku ženy. Pokud je příčina iatrogenní, jako chemoterapie nebo radioterapie, ovariální funkce se může měnit od nepravidelných menstruačních cyklů k permanentnímu ovariálnímu selhání. Proto je v tomto případě vhodné opakovat stanovení FSH v několika cyklech. U žen s předčasným ovariálním selháním pod 30 let věku je třeba vyšetřit karyotyp pro vyloučení translokace chromozomů nebo přítomnost okultního chromosomu Y, což jsou rizikové faktory pro vznik ovariálních tumorů.

Až 40% žen s předčasným ovariálním selháním mohou mít autoimunitní onemocnění, nejčastěji autoimunitní tyreoiditu. Patientky by proto měly podstoupit vždy **vyšetření [TSH](#)** a **protilátek proti tyreoidální peroxidáze ([anti-TPO](#))**.

Vybraná literatura

1. Cibula D, Henzl MR, Živný J et al.: Základy gynekologické endokrinologie. Grada, 2002
2. Citterbart K et al.: Gynekologie. Galén, 2001
3. Čepický P. Poruchy menstruačního cyklu. Mod. Gynek. Porod. 10/2001
4. Čepický P. Hormonální terapie menstruačních poruch. Mod. Gynek. Porod. 9/2000 č. 3
5. Fait T, Živný J. Poruchy menstruačního cyklu. Mod. Gynek. Porod. 9/2000 č. 2
6. Marshal JC and Reame NK. Hormonal regulation of the menstrual cycle, mechanisms of ovulation, premenstrual syndromes. In: Jameson, de Groot (Eds.): Endocrinology. Saunders Elsevier 2010, 6th Edition, p. 2328.
7. Master-Hunter T, Heiman DL. Amenorrhea: Evaluation and Treatment. Am Family Phys, 2006, 73 (8), 1374-1382.
8. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine: Current Evaluation of Amenorrhea. American Society for Reproductive Medicine (Fertil Steril 2006;86(Suppl 4):S148 –55.
9. Wheeler MJ. Infertility. In: The Immunoassay Handbook, Wild D (Ed.), 3rd Edition, Elsevier 2005, pp 565-579

1.3 Hormonální příčiny neplodnosti u žen

Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, fertilita žen i mužů závisí na souhře několika mechanismů v hypotalamo-hypofyzárně-gonadální ose. Pokud je tato souhra narušena, je narušena i produkce příslušných hormonů a to může být příčinou snížené plodnosti či neplodnosti. V následujících statích jsou uvedeny nejčastější hormonální poruchy.

1.3.1 Hypoandrogenémie

Luboslav Stárka

Hypoandrogenémie u žen je nedostatečné zásobení organismu adrenálními nebo ovariálními androgeny: [testosteronem](#), [androstendionem](#) nebo [dehydroepiandrosteronem \(DHEA\)](#). Ve srovnání s hyperandrogenémií je nedostatečné produkci androgenů u žen věnována v odborné literatuře nepoměrně menší pozornost. Podle databáze PubMed na 400 článků o hyperandrogenémii bylo dosud uveřejněno jen osm prací o hypoandrogenémii. Domácí literatura si však tohoto tématu všímala poměrně výrazně ať již z hlediska ženské sexuality (Čepický 1998, Kubíček 1998, Pastor 1998) nebo z pohledu endokrinologie (Stárka 2007).

O podávání androgenů ženám se pokoušela již dříve z různých důvodů řada lékařů. První komplexnější práci navrhuující terapii hypoandrogenémie kombinací estrogenů a androgenů u žen s psychosexuálními problémy byla však až práce Studdova (1977) a potom s desetiletým odstupem příspěvek Sherwinův (1987) a Burgerův (1987). Systematičtěji se tímto problémem v literatuře setkáváme teprve v druhé polovině minulého desetiletí (Davis et al. 1995, Sherwin et al. 1997, Davis 1999).

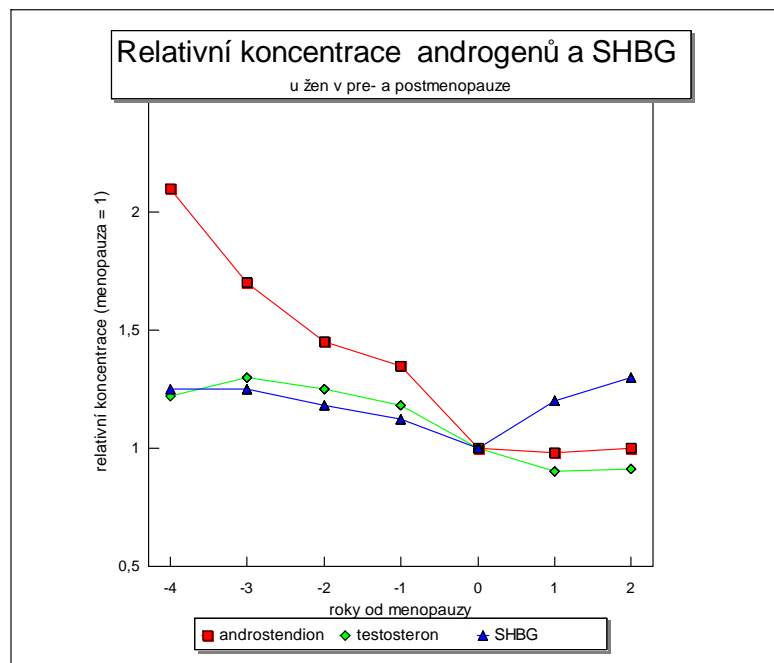
Zdroje androgenů u ženy

Přibližně dvě třetiny androgenů u žen v reprodukčním věku pocházejí z adrenální sekrece, zbývající třetina je ovariálního původu (Burger 2002). (Tabulka 6). Hlavní adrenální C19-steroid dehydroepiandrosteron sulfát ([DHEAS](#)) je sice slabým androgenem, ale zato jeho sekrece je řádově vyšší než sekrece ostatních androgenů. V periférii pak dochází k částečné přeměně androgenů z adrenálního zdroje na androstendion a z nich na hormony androgenně neaktivnější, [testosteron](#) a [dihydrotestosteron](#).

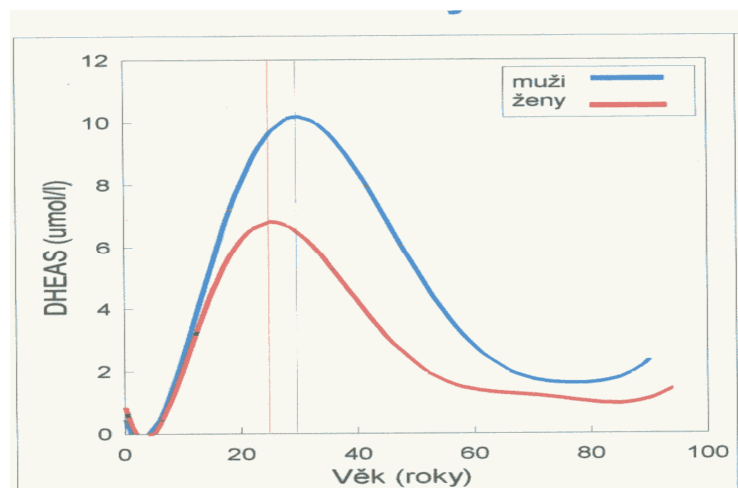
Tabulka 6. Původ a koncentrace androgenů u ženy (údaje převzaty z literatury). DHEA = dehydroepiandrosteron, DHEAS = dehydroepiandrosteron sulfát.

androgen	Denní produkce (mg/den)	Koncentrace v plazmě (nmol/l)	Ovariální %	Adrenální %	Periferie %
Testosteron	0,1-0,4	0,6-2,5	25	25	50
Androstendion	1,4-6,2	1,5-5,4	50	50	0
Dihydrotestosteron		0,10-0,90	2	0	98
DHEA	6-8	3-35	20	50	30
DHEAS	3,5-20	2 000–15 000	0	100	0

Ovariem produkované androgeny testosteron a androstendion mají typickou cyklickou sekreci během menstruačního cyklu se vzestupem uprostřed cyklu. Ovariectomie před menopauzou i po ní snižuje koncentrace testosteronu asi na polovinu, snížení je vyvoláno také léčbou kortikoidy. V letech před menopauzou sekrece estrogenů ovariem klesá a i ovariální androgeny snižují svou hladinu. To platí především pro androstendion. Testosteron před menopauzou podle některých autorů mírně klesá, podle jiných stoupá (Sowers et al. 2009), mění se i hladina sexuální hormonu vázajícího globulinu (SHBG) a index volného testosteronu stoupá mezi 34 a 58 lety na dvojnásobek (z 1,3 na 2,5) (Sowers et al 2009). Zatímco vyhasínání estrogenní sekrece ovariem pokračuje i po menopauze, ovariální androgenní sekrece se udržuje na poměrně stálé výši nebo dokonce i mírně stoupá (Obrázek 5). Výrazný pokles s věkem však vykazuje adrenální dehydroepiandrosteron (DHEA) a jeho sulfát (DHEAS), viz Obrázek 6.



Obrázek 5. Změny hladin androstendionu, testosteronu a SHBG v perimenopauze (upraveno podle údajů z Burger et al. 2000). SHBG = sexuální hormonu vázající globulin.



Obrázek 6. Pokles dehydroepiandrosteron sulfátu (DHEAS) v závislosti na věku (podle Šulcová et al. 1997).

Jen asi 1 % kolujícího testosteronu a dihydrotestosteronu je ve volné, biologicky plně a pohotově aktivní formě, zbytek je pevnou vazbou vázán na SHBG a volněji na albumin. Přesnějším ukazatelem biologické aktivního testosteronu je tedy jeho volná frakce – **volný testosteron**.

Důsledky snížené hladiny androgenů

Nejčastější potíží pacientek s nedostatečnou hladinou androgenů je snížení až ztráta libida, sexuální vzrušivosti a sexuálních představ. Nižší hladiny testosteronu vedou také k mírné redukci svalové hmoty - sarkopenii - a tělesného ochlupení, ke změně poměru tukové a netukové tkáně a distribuce tuku. U žen s nedostatkem androgenů se objevuje přetrvávající nevysvětlitelná únava a snížení pocitu pohody (well-being). Hypoandrogenémie zvyšuje riziko osteopenie a osteoporózy.

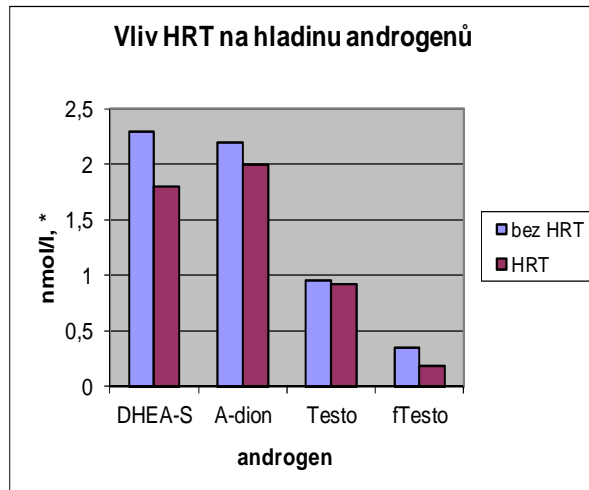
Podle různých pramenů 9-43 % žen trpí sexuální dysfunkcí (Davis 2009), jako zatěžující však tento stav pociťuje z nich jenom menší část (Palacios et al. 2009). V USA se počítá, že zhruba 16 milionů žen ve věku přes 50 let má běžně zkušenost s menší sexuální apetencí a že asi 4 miliony žen má poruchu definovanou jako hypoaktivní sexuální apetenci (*hypoactive sexual desire disorder*, HSDD) (Krapof a Simon 2009). Nedostatečná sexuální apetence je tedy běžným problémem, který je však multifaktoriální a změna hormonálních hladin je pouze jednou z nezávislých příčin. Přináší však často další problémy v partnerském životě a také v sebehodnocení a životní spokojenosti a významně zhoršuje kvalitu života (Schwenkhagen a Studd 2009; Nappi a Lachowski 2009).

Stavy se sníženou hladinou androgenů

Mezi stavy s výraznou androgení nedostatečností patří **hypofyzární a adrenální insuficience** a různé formy výpadu ovariální funkce jako **předčasné ovariální selhání, ovarektomie** a v menší míře i **postmenopauzální změny ovariální funkce**. Ovarektomované ženy mají celkový i biologicky dostupný testosteron o 40 – 50 % nižší než intaktní ženy ve věkovém rozmezí 50 – 89 let a jeho hladiny se u nich s věkem nemění. Nezanedbatelný je i věkem podmíněný výpad adrenální sekrece androgenů, resp. jejich prekurzorů – **adrenopauza**. Výrazným poklesem androgenů se vyznačuje **adrenální insuficience primární i sekundární** nebo **stav po adrenalectomii**. Změny v adrenální produkci androgenů mohou však být i **důsledkem léčby kortikoidy**, kdy je utlumena vlastní nadledvinová produkce kortikoidů i androgenů. Také **chronický stres** snižuje adrenální produkci androgenů. Hypoandrogenemii vyvolává také **podávání estrogenerů**, ať již ve formě hormonální náhradní terapie HRT nebo i dlouhodobé podávání orálních hormonálních kontraceptiv (Jayo et al. 2000). Také iatrogenní estrogenizace transsexuálek male-to-female vede k výraznému snížení androgenů a sexuální apetence (Elaut et al. 2008). Podávané estrogény zvyšují hladinu SHBG a tím snižují biologickou dostupnost androgenů (obr. 3) a působí také na sekreci gonadotropinů na centrální úrovni. Rovněž další iatrogenně navozené hypoandrogení stavy jako je užívání analog gonadoliberinu při léčbě endometriózy, osteoporóza po léčbě kortikoidy či tyreoidálními hormony nebo premenopauzální ztráta

kostní hmoty, premenopauzální syndrom a ztráta libida mohou být předmětem léčby androgeny.

Pokles androgenů je také průvodním jevem ve stáří a při závažných chronických onemocněních.



Obrázek 7. Celkový a volný testosteron, androstendion a dehydroepiandrosteron sulfát u postmenopauzálních žen bez substituce a na HRT. * pro DHEA-S jednotky $\mu\text{mol/l}$. HRT = hormonální substituční terapie. Podle Ali et al. 2009.

Diagnostika hypoandrogenémie

Klinické příznaky hypoandrogenémie jsou značně nespecifické, proto je pro diagnózu androgenní nedostatečnosti důležité **stanovení kolujících androgenů**.

Kritéria androgenní nedostatečnosti u žen dosud nebyla předmětem konsensu odborníků. Za relativní androgenní nedostatečnost zpravidla považujeme koncentraci celkového [testosteronu](#) pod $1,0 \text{ nmol/l}$, volného testosteronu pod 14 pmol/l a hodnotu indexu volného testosteronu FAI pod $1,75$ (Tabulka 7). Na rozdíl od mužů však hodnota těchto kritérií není ověřena na velkých souborech a srovnáním s klinickými příznaky nedostatku androgenů.

Tabulka 7. Hodnoty celkového a volného testosteronu a indexu volných androgenů (FAI) u zdravých žen a u žen s androgenní nedostatečností (podle údajů z databáze Endokrinologického ústavu Praha)

Ukazatel	Referenční rozmezí	Hodnoty považované za nedostatečné
Celkový testosteron (TT)	$1,5 \pm 0,2 \text{ nmol/l}$	$< 1,1 \text{ nmol/l}$
FAI (TT/SHBG x 100)	$2,55 \pm 0,39$	$< 1,75$
volný T	$19,6 \pm 2,7 \text{ pmol/l}$	$< 14,2 \text{ pmol/l}$
% volného T k T	$1,22 \pm 0,05 \%$	

Doporučení odborných společností se shodují v tom, že měřen má být celkový testosteron, i když přesnější charakterizaci androgenizace přináší údaje o volném testosteronu. Přesné metody měření volného testosteronu jako je ultrafiltrace nebo srážecí metody jsou natolik pracné, že se pro rutinní stanovení nehodí. Metoda analogového stanovení biologicky

dostupného testosteronu, kdy se analog testosteronu váže na protilátku, ale nikoli na [SHBG](#), přináší nesrovnatelné výsledky mezi jednotlivými typy metod a zpravidla podhodnocuje. Dobrou informaci dává index volných androgenů (FAI), což je poměr testosteronu k SHBG x100, ovšem jen tehdy, nejsou-li hodnoty SHBG extrémně nízké nebo vysoké. Nejpřesnější je pak výpočet biologicky dostupného testosteronu (BAT) s pomocí koncentrace albuminu, testosteronu a SHBG a asociačních konstant testosteronu a SHBG a albuminu.

Hladiny celkového testosteronu nejsou dostatečně informujícím ukazatelem tam, kde dochází ke zvýšení globulinu vázajícího sexuální hormony (SHBG), např. u estrogenní nebo kombinované náhradní terapie (ERT a HRT) u žen s výpadem ovariální sekrece estrogenů, u žen na perorální hormonální kontracepci, u žen s hyperfunkcí štítné žlázy a podobně. Pak je nutno přihlídnout k hladinám SHBG a určovat index volných androgenů, volný testosteron nebo biologicky dostupný testosteron.

Ačkoli výpad adrenální funkce bývá vzácnější příčinou hypoandrogenémie, je na místě kontrola hladin dehydroepiandrosteronu a jeho sulfátu, je-li na adrenální insuficienci podezření. Tato stanovení jsou užitečná i při dlouhodobějším podávání kortikoidů v různých formách z nejrůznějších důvodů.

Odběry na stanovení androgenů by se měly provádět ráno a u menstrujících žen ve folikulární fázi nebo uprostřed cyklu.

Substituční léčba androgeny

Léčba subnormálního zásobení androgeny u žen má podle řady studií příznivý vliv především na utlumené libido (Davis et al. 2008a,b; Anastadiadis et al. 2002; Braunstein 2002; Bolour a Braunstein 2005; Kingsberg et al. 2008). I když zřetelně přispívá k zlepšení sexuálního života, zlepšení pocitu pohody, a také k snížení únavy, zvýšení hydratace kůže a zlepšení stavu kostí, je zatím připouštěna světovými odborníky jen s výhradami, a to v těch případech, kdy snížení sexuální aktivity postižených žen by mohlo vést k narušení partnerského vztahu. Týká se to především mladších žen po hysterektomii a adnexektomii substituovaných estrogenu.

Doporučení americké Endokrinologické společnosti (Wierman et al. 2006) a další práce (Schower 2008) se staví k suplementaci [testosteronem](#) s výhradami a zatím ji obecněji nedoporučují pro nedostatečný počet ověřených studií a odvolávají se na dosud neznámé důsledky této terapie v delším časovém horizontu. Tato opatrnost byla však kritizována řadou dalších zkušených kliniků (Burger a Papalia 2009, Basaria a Dobs 2006), kteří doporučují individuální přístup u všech případů snížené sexuální apetence spojené s hypoandrogenémií, zejména po chirurgické menopauze a tam, kde hypoaktivní sexuální apetence ohrožuje partnerské vztahy.

Pro terapii se používají nejlépe transdermální formy testosteronových přípravků (gel, náplasti, krém) s dávkou 150 µg/den, výjimečně 300 µg/den. Obecně se doporučuje kombinovat androgeny s estrogenní léčbou (Davis et al. 2008a,b, Nappi a Lachowski 2009). Bohužel transdermální přípravky s malým obsahem testosteronu nejsou zatím běžně

dostupné. Ani v USA nebyl zatím FDA schválen žádný testosteronový přípravek určený pro léčbu ženské androgenní nedostatečnosti.

Zatímco [estrogeny](#) s ohledem na sexuální dysfunkci zlepšují sexuální vzrušení, uspokojení a orgasmus, androgeny zvyšují libido (Nappi a Lachowski 2009). Je však třeba počítat i s vedlejšími nežádoucími účinky, jakými jsou hirsutismus, akné, seborhoe, nepříjemně pociťované zvýšení sexuality, zvýšení hematokritu a retence vody. Protože se část [DHEA](#) transformuje na androgeny a při terapii tímto steroidem se dosahují fyziologické hodnoty testosteronu, doporučují někteří autoři léčbu tímto steroidem v zemích, kde je dostupný.

Doporučená denní dávka DHEA je 25 – 50 mg, p.o. nebo transdermálně. Nižší dávky údajně nemají znatelnější účinek proti placebo, dávky vyšší jsou nefyziologické a mohou vyvolávat některé mírné nežádoucí účinky, které jsou reverzibilní a většinou se přičítají účinkům androgenů, na který je DHEA konvertován. Léčba DHEA je doporučována jako přírůstek k léčbě kortikoidy pro adrenální insuficienci u žen (Arlt et al. 1998), nikoli však tam, kde pokles hladin DHEA je důsledkem věku (Davison a Davis 2011).

Nedávné placebem kontrolované studie o substituční terapii testosteronem u žen s výraznou hypoandrogenémií zjistily signifikantní nárůst svalové hmoty, ale žádnou změnu v tělesném tuku (Miller 2009). Podobně příznivý účinek na tělesné složení po terapii testosteronem zejména v kombinaci s estrogeny uvádí Davisová (Davis et al. 2009). Klesal celkový cholesterol a obsah celkového tuku, netuková tkáň rostla a zlepšovala se kostní denzita v kyčli a lumbálních obratlích.

Před zahájením léčby testosteronem a 1-2 měsíce po jejím započetí je třeba zkontrolovat lipidogram, hematokrit a jaterní enzymy a klinicky zhodnotit kožní projevy možné iatrogení hyperandrogenémie.

Jaká jsou rizika léčby androgeny?

Při použití [testosteronu](#) ve vyšších dávkách, které pak vedou k suprafyziologickým koncentracím kolujících hormonů, není vyloučen výskyt maskulinizačních příznaků v menším nebo středním rozsahu. Ženská kožní adnexa jsou ke zvýšeným hladinám testosteronu a dihydrotestosteronu citlivá, při výskytu seborhoe, akné nebo hirsutismu je třeba dávku snížit nebo na nějaký čas léčbu zcela zastavit. Kromě projevů relativní hyperandrogenémie se poněkud mohou měnit některé parametry lipidogramu, ale riziko kardiovaskulárních onemocnění se nemění. Nepříjemně může být vnímána některými ženami zvýšená sexuální apetence a je třeba kontrolovat, zda nedošlo ke zvýšení hematokritu a retence vody. Tato rizika prakticky odpadají při terapii slabými androgeny typu [DHEA](#) nebo minimálními dávkami testosteronu. I tak je však třeba kontrolovat před začátkem léčby a 1 – 2 měsíce po jejím zahájení lipidogram, hematokrit a jaterní enzymy a pravidelně zhodnocovat, zda se neobjevují kožní známky nadbytečné androgenizace.

Dlouhodobá bezpečnost podávání testosteronu ženám v substituční dávce nebyla zatím dostatečně prokázána, např. účinek na mléčnou žlázu, endometrium nebo na metabolický syndrom. Vedlejší účinky několikaměsíční testosteronové léčby zahrnují mírnou až střední

reversibilní akné a hirsutismus, a při podávání orálního, ale nikoli transdermálního hormonu i změny lipidogramu. Pohybují-li se výsledné hladiny testosteronu v horním referenčním rozmezí nebo i mírně nad ním, nezvyšuje to riziko hepatotoxicity, hyperplasie endometria nebo změn chování směrem k agresivitě a hostilitě. Nebyly zaznamenány žádné nepříznivé kardiovaskulární změny včetně krevního tlaku, hyperkoagulační stavy nebo polycytemie. Testosteron ve fyziologických dávkách nezvyšuje, naopak snad mírně snižuje riziko karcinomu prsu (Shufelt a Braunstein 2009).

Závěr

Androgenní nedostatečnost u žen je poměrně častý stav snižující kvalitu života. Jeho přesnější vymezení na základě klinických příznaků a laboratorních nálezů však dosud chybí. Androgenní substituce pomáhá v mnoha případech zlepšit sníženou sexuální apetenci a některé ukazatele tělesného složení. Krátkodobá rizika jsou nezávažná, dlouhodobý účinek testosteronové terapie je však dosud nejasný a je důvodem k opatrnosti při zavádění této terapie i u případů s prokázanou nedostatečností v produkci androgenů (Davison a Davis 2011). Léčba hypoandrogenémie [testosteronem](#) není dosud standardizována a je zatím proto doporučována jen tam, kde snížení sexuální apetence vede k ohrožení partnerského vztahu. Pro léčbu testosteronem chybí dosud na trhu pro ženy vhodné a hlavně schválené přípravky. Léčba dehydroepiandrosteronem ([DHEA](#)) se pak bez podstatnějších výhrad doporučuje u případů adrenální insuficience substituovaných kortikoidy, eventuelně i u dlouhodobé kortikoidní terapie.

Rizika přiměřeně vedené androgenní substituce nejsou závažná, chybějí však dosud dlouhodobější studie, které by nás informovaly, jak trvalejší androgenní léčba může ovlivnit mléčnou žlázu a endometrium nebo ovlivnit rozvoj metabolického syndromu.

Vybraná literatura

1. Ali I, James T, Meston N, Wojnarowska F, Shine B. Age and hormone replacement therapy as factors influencing androgen levels in the postmenopausal female. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(2):202-7.
2. Anastasiadis AG, Davis AR, Salomon L, Burchardt M, Shabsigh R. Hormonal factors in female sexual dysfunction. *Curr Opin Urol*. 2002;12(6): 503-7.
3. Arlt W, Justl HG, Callies F, Reincke M, Hübler D, Oettel M, Ernst M, Schulte HM, Allolio B. Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83(6): 1928-34.
4. Basaria S, Dobs AS. Clinical review: Controversies regarding transdermal androgen therapy in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(12), p. 4743-4752.
5. Bolour S, Braunstein G. Testosterone therapy in women: a review. *Int J Impot Res*. 2005; 17(5): 399-408
6. Braunstein GD. Androgen insufficiency in women: summary of critical issues. *Fertil. Steril*. 77, Suppl.4, 2002: S94-S99.

7. Burger HG, Dudley EC, Cui J, Dennerstein L, Hopper JL A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the menopause transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85,2000: 2832-2838.
8. Burger HG, Hailes J, Nelson J, Menelaus M. Effect of combined implants of estradiol and testosterone on libido in postmenopausal women. *Br Med J.* 1987; 294: 936-937.
10. Burger HG, Papalia MA. A clinical update on female androgen insufficiency--testosterone testing and treatment in women presenting with low sexual desire. *Sex Health.* 2006 May;3(2):73-8
11. Burger HG. Androgen production in women. *Fertil. Steril.* 77, Suppl.4, 2002: S3-S5.
12. Čepický P. Sexuální hormony a ženská sexualita. *Moderní Gynekol Por.* 2005; 14(1):
13. Davis SR, McCloud P, Strauss BJ, Burger H. Testosterone enhances estradiol's effects on postmenopausal bone density and sexuality. *Maturitas.* 1995; 21(3): 227-36.
14. Davis SR, McCloud P, Strauss BJ, Burger H. Testosterone enhances estradiol's effects on postmenopausal bone density and sexuality. *Maturitas.* 2008;61(1-2):17-26.
15. Davis SR, Moreau M, Kroll R, Bouchard C, Panay N, Gass M, Braunstein GD, Hirschberg AL, Rodenberg C, Pack S, Koch H, Moufarege A, Studd J; APHRODITE Study Team. Testosterone for low libido in postmenopausal women not taking estrogen. *N Engl J Med.* 2008 Nov 6;359(19):2005-17
16. Davis SR. Should women receive androgen replacement therapy, and if so, how? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72(2):149-54.
17. Davis SR. The therapeutic use of androgens in women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999; 69(1-6): 177-84.
18. Davis SR, Panjari M, Stanczyk FZ. DHEA Replacement for Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(6):1642-53.
19. Davison SL, Davis SR. Androgenic hormones and aging - The link with female sexual function. *Horm Behav* 2011; 59(5): 745-53.
20. Elaut E, De Cuypere G, De Sutter P, Gijs L, Van Trotsenburg M, Heylens G, Kaufman JM, Rubens R, T'Sjoen G. Hypoactive sexual desire in transsexual women: prevalence and association with testosterone levels. *Europ J Endocrinol*, 2008;158: 393-399
21. Jayo MJ, Register TC, Hughes CL, Blas-Machado U, Sulistiawati E, Borgerink H, Johnson CS. Effects of an oral contraceptive combination with or without androgen on mammary tissues: a study in rats. *J Soc Gynecol Investig.* 2000;7(4):257-65.
22. Kingsberg SA, Simon JA, Goldstein I. The current outlook for testosterone in the management of hypoactive sexual desire disorder in postmenopausal women. *J Sex Med.* 2008 Sep 2;5 Suppl 4:182-93.
23. Krapf JM, Simon JA. The role of testosterone in the management of hypoactive sexual desire disorder in postmenopausal women. *Maturitas.* 2009 Jul 20;63(3):213-9.
24. Kubíček V. Farmakoterapie ženské sexuality. *Moderní Gynekol Por.* 2005; 14(1):
25. Miller KK. Androgen deficiency: effects on body composition. *Pituitary.* 2009;12(2):116-24.
26. Nappi RE, Lachowsky M. Menopause and sexuality: prevalence of symptoms and impact on quality of life. *Maturitas.* 2009 Jun 20;63(2):138-41.
27. Palacios S, Castaño R, Graziotin A. Epidemiology of female sexual dysfunction. *Maturitas.* 2009; 63(2):119-23.
28. Pastor Z. Ženská sexuální dysfunkce. *Moderní Gynekol Por.* 2005; 14(1): xx-xx
29. Sherwin BN, Gelfand MM. The role of androgen in the maintenance of sexual function in oophorectomized women. *Psychosom Med.* 1987; 49: 397-409.

30. Sherwin BN, Gelfand MM., Brender W. Androgens enhance sexual motivation in females: a prospective, crossover study of sex steroid administration in surgical menopause. *Psychosom Med* 1997; 47: 397-409.
31. Shufelt CL, Braunstein GD. Safety of testosterone use in women. *Maturitas*. 2009 May 20;63(1):63-6.
32. Schover LR. Androgen therapy for loss of desire in women: is the benefit worth the breast cancer risk? *Fertil Steril*. 2008;90(1):129-40.
33. Schwenkhagen A, Studd J. Role of testosterone in the treatment of hypoactive sexual desire disorder. *Maturitas*. 2009;63(2):152-9.
34. Sowers MF, Zheng H, McConnell D, Nan B, Karvonen-Gutierrez CA, Randolph JF Jr. Testosterone, sex hormone-binding globulin and free androgen index among adult women: chronological and ovarian aging. *Hum Reprod*. 2009; 24(9): 2276-85.
35. Stárka L. Hypoandrogenémie u žen. *Postgrad Med*. 2007; 9:719-721.
36. Studd JWW, Collins WP, Chakravarti S. Estradiol and testosterone implants in the treatment of psychosexual problems in postmenopausal women. *Br J Obstet Gynaecol* 1977; 47: 339- 351.
37. Šulcová J, Hampl R, Hill M, Stárka L. Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects. *J Endocr* 1997;154:57–62.
38. Wierman ME, Basson R, Davis SR, Khosla S, Miller KK, Rosner W, Santoro N. Androgen therapy in women: an Endocrine Society Clinical Practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(10): 3697-710.

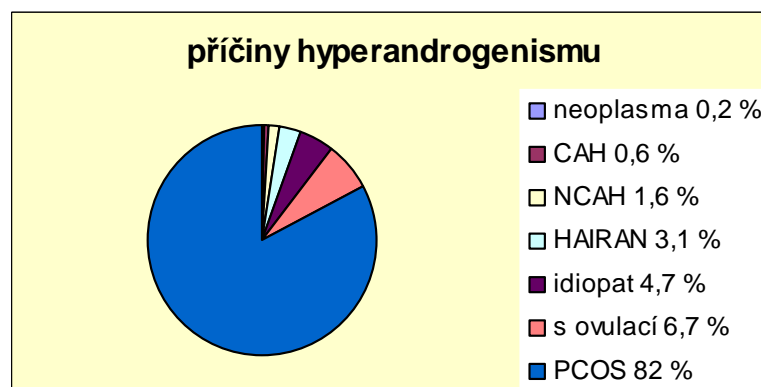
1.3.2 Hyperandrogenémie a syndrom polycystických ovarií (PCOS)

Luboslav Stárka

Hyperandrogenémie je zvýšená hladina kolujících androgenů, která je provázena klinickými příznaky androgenizace ženy z kategorie maskulinizačních nebo virilizačních příznaků. Klinické projevy jsou výrazně ovlivněny rasou, u některých asijských národů ani výrazně zvýšené hladiny androgenů nemusí vést k androgenizačním příznakům, ale jinde se objevují i bez zřetelnějšího zvýšení hladin androgenů.

Epidemiologie: V evropské populaci se odhaduje výskyt hyperandrogenizace u ženy až na 10 %, prevalence klesá od jihu k severu.

Etiologie: je velmi pestrá, příčiny ovariální nebo adrenální nadprodukce mohou být důsledkem vrozených enzymopatií, změn regulace produkční žlázy, nádorů, změn metabolisme androgenů nebo zvýšené aktivace receptorových mechanismů. Zvýšení androgenů u žen je průvodním příznakem u metabolického syndromu. Udává se, že z velkého souboru hyperandrogenizovaných žen mělo 82% *syndrom polycystických ovarií*, ovariální příčina při současném ovulačním cyklu byla u 6,7%, syndrom HAIRAN (hyperandrogenémie s inzulínovou rezistencí a acanthosis nigricans) u 3,1%, adrenální příčina byla u 2,2% (klasická *adrenální hyperplasie CAH* u 0,6%, neklasická forma u 1,2 %, vzácně Cushingův syndrom) a v 0,2% byl příčinou nádor, převážně ovariální. (Obrázek 8). Zbytek připadal na nejasné příčiny a iatrogení androgenizace (anabolika, hormonální kontracepce přípravky s vyšším androgenním účinkem gestagenní složky).



Obrázek 8. Distribuce hyperandrogenémie mezi různé diagnózy. CAH – vrozená adrenální hyperplasie; NCAH – neklasická CAH; HAIRAN – hirsutismus, inzulínová rezistence, acanthosis nigricans ; idiopat – idiopatický hirsutismus; s ovulací - PCOS s ovulačními cykly; PCOS – syndrom polycystických ovarií

Symptomatologie: Důsledkem hyperandrogenémie u žen je rozvoj některých příznaků, které jsou jinak sekundárními pohlavními znaky mužského pohlaví. Někdy je dělíme na lehčí příznaky maskulinizační a těžší příznaky virilizační. Maskulinizačními příznaky jsou: akné, seborhoe, mastná pleť, hirsutismus, difuzní alopecie, nepravidelnosti menstruačního cyklu, zvýšené libido, atrofie prsů, hydradenitis. Výraznější androgenizace způsobuje virilizaci: k maskulinizačním příznakům přistupuje akcentovaná virilizace: klitoromegalie, prohloubení a

zdrsnění hlasu, frontotemporální alopecie, hypertrofie svalstva, mužský tělesný habitus a vyhasnutí menstruačního cyklu.

Zejména kožní příznaky hyperandrogenémie, akné a hirsutismus, eventuálně androgenní defluvium crinium je často ženami prožíváno velmi těžce. Nepříznivé subjektivní vnímání maskulinizačních příznaků nemusí být závislé na jejich skutečné intenzitě. Proto někteří autoři doporučují přijmout diagnózu hirsutismu i tam, kde tělesné ochlupení nepřesahuje běžnou míru, ale je ženou vnímáno jako psychická zátěž.

Diagnóza: spočívá v zhodnocení somatických známek, zejména kožních, a **potvrzení hyperandrogenémie zvýšenými hladinami androgenů**, nejčastěji stanovením *celkového testosteronu*, který by u žen neměl překračovat koncentraci 2,9 nmol/l. Užitečné je vedle celkového testosteronu i stanovení *volného testosteronu*, *SHBG*, *DHEAS*, *androstendionu* a *LH* (Tabulka 8).

Tabulka 8. Referenční rozmezí některých ukazatelů androgenizace u žen v reprodukčním věku (použity údaje z literatury). SHBG = sexuální hormony vázající globulin, FAI = index volných androgenů, T = testosteron.

ukazatel	jednotky	rozmezí
testosteron	nmol/l	0,5-3,0
volný testosteron	pmol/l	14-25
androstendion	nmol/l	1,5-5,4
dehydroepiandrosteron sulfát	μmol/l	0,66- 14,5
dihydrotestosteron	nmol/l	0,10-0,90
SHBG	nmol/l	40-95
FAI ((T/SHBG x 100)		1,7 - 3,0

- Jestliže je testosteron vyšší než dvojnásobek horní hranice referenčního rozmezí, doporučuje se stanovení DHEAS.
- DHEAS nad 20 μmol/l ukazuje na adrenální tumor secernující androgeny.
- Je-li DHEAS normální, může být diagnózou buď ovariální hypertekóza (asociovaná s inzulínovou rezistencí) nebo ovariální tumor secernující androgeny (Pugeat et al 2010).
- Méně často je zvýšený testosteron spojen s výraznějším zvýšením SHBG, zřejmě jako výsledek medikace s estrogením účinkem (tamoxifen, raloxifen, op'DDD), hypertyreózy nebo jaterního onemocnění.
- Normální testosteron u pacientek se zřejmými hyperandrogeními symptomy (hirsutism, seborrhoe, akné) je třeba interpretovat opatrně.
- SHBG je obvykle snížen při nadváze, u metabolického syndromu nebo u diabetu s rodinnou anamnézou.

Diferenciální diagnóza: primárním úkolem je odlišit poměrně vzácnou příčinu zdroje androgenů z ovariálních nebo adrenálních nádorů produkujících androgeny. Podezření na nádorovou příčinu vyvolává náhlý nástup příznaků, zejména až po dosažení dospělosti, jejich rychlá progresse a rychlý nástup virilizačních příznaků. Podezření pak potvrzují zobrazovací metody. Příčiny adrenální většinou pomůže odhalit stanovení *17α-hydroxyprogesteronu*,

který je zvýšen při vrozené adrenální hyperplasii u nadledvinových enzymopatií. U neklasické formy je toto stanovení rozhodující až po stimulaci [ACTH](#). Cushingův syndrom odliší jednak klinické příznaky, jednak laboratorní vyšetření: zvýšené hladiny kortizolu, zploštění jeho diurnálního cyklu, vyšší kortizol v moči, dexamethasonový supresní test a další. Nejčastěji za hyperprodukcii androgenů zodpovídá ovarium (syndrom polycystických ovarií), ale často i při zřetelné nadprodukcii androgenů ovariem nalézáme i jejich zvýšenou produkci adrenální.

Nejdůležitější pro diferenciální diagnostiku je potřeba rozpoznat nádorovou příčinu hyperandrogenizace. Z klinických příznaků na ně může upozornit náhlý nástup, rychlá progresse a nástup virilizačních znaků. I když neplatí přímý vztah mezi koncentrací testosteronu a závažností onemocnění, hladiny celkového testosteronu nad 6 nmol/l by měly vždy vést k podrobnějšímu zobrazovacímu vyšetření k vyloučení maligního nádoru. Je však třeba upozornit, že některé ovariální androgenizující nádory (arrhenoblastom) mohou i při přehlédnutelné velikosti být zdrojem vysokých hladin androgenů. Vzácné adrenální tumory secernující androgeny se často vyznačují extrémními hladinami DHEA.

Z možností v diferenciální diagnóze jsou nejdůležitější **kongenitální adrenální hyperplasie (CAH)** a **syndrom polycystických ovarií (PCOS)**

Kongenitální adrenální hyperplasie je adrenální enzymopatie s vážnoucím posledním krokem biosyntézy glukokortikoidů. Blok 21-hydroxylázy nebo blok 11 β -hydroxylázy vede k tomu, že se hromadí prekurzory glukokortikoidů (17 α -hydroxyprogesteron [[17-OHP](#)]), které jsou pak využity k biosyntéze androgenů. Referenční rozmezí pro 17 α -hydroxyprogesteron je uvedeno v tabulce 9. Zatímco klasická adrenální hyperplasie je obvykle dobře rozpoznána pediatry (novorozenecký screening), CAH neklasická se může projevit až v dospívání zvýšenou androgenizací.

Tabulka 9. Referenční rozmezí hladiny 17 α -hydroxyprogesteronu

Věk (roků)	17-OHP (nmol/l)
9-14	0,3-7,7
15-30	1,1-8,4
nad 30	0,3-4,5

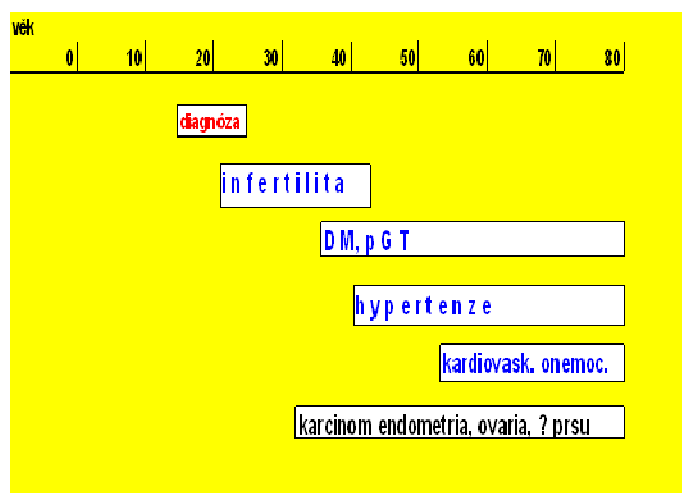
Prevalence neklasické CAH (CAH s pozdním nástupem, late-onset-CAH) má poměrně vysokou prevalenci 1:100 až 1:1000, ale jsou známa etnika s prevalencí 1:27.

Laboratorně je 17-OHP jen mírně nad normou nebo zcela v normálním rozmezí. Rozhoduje pak dynamický test po stimulaci [ACTH](#), ve které je pozitivním nálezem vzestup 17-OHP na nebo nad čtyřnásobek bazální hodnoty.

Syndrom polycystických ovarií (PCOS) je nejčastější ženskou endokrinopatií, postihuje až 5 - 15 % žen v reprodukčním věku. Prevalence je závislá na rasových, geografických a kulturních podmínkách a závisí také na definici syndromu. V r. 1990 platila definice NIH, která požadovala současný výskyt anovulace a hyperandrogenémie. V roce 2003 evropská a americká ESHRE – ASRM definovala PCOS jako současný výskyt dvou ze tří kritérií –

menstruační dysfunkce, hyperandrogenémie a polycystická ovaria. Jednoznačné diagnostické kritérium však neexistuje. I hyperandrogenémie je definována poměrně volně, může jít o celkový [testosteron](#), volný testosteron, index volných androgenů, další androgeny ([androstendion](#), [DHEA](#)), podobně nejsou přesněji definovány menstruační nepravidelnosti. Dříve se uváděl zvýšený poměr [LH/FSH](#) (nad 2,5 nebo nad 3) jako typický pro PCOS, dnes však víme, že je to znak nepříliš specifický. Sonografie ovaríí odhalující polycystická ovaria, by měla být provedena zkušeným sonografistou, nejlépe transvaginálně.

PCOS kromě hyperandrogenismu a poruch fertility přináší další rizika, zejména zvýšenou inzulínovou rezistenci (Obrázek 9).



Obrázek 9. Časový nástup rizik u pacientek s PCOS DM = diabetes mellitus 2. typu; pGT = porušená glukózová tolerance.

Terapie: u vzácnější nádorové androgenizace je léčbou odstranění nádoru. U adrenálních příčin je vedle kosmetických prostředků vhodná hormonální antikoncepce s antiandrogenní složkou (cyproteronacetát, medroxyprogesteronacetát) nebo s přidáním dalšího antiandrogenu (spironolakton, flutamid aj.). Součástí léčby je i blok produkce nadledvinových steroidů podáváním účinných kortikoidů (dexamethason, prednison) ve fyziologické dávce. U syndromu polycystických ovaríí je léčbou příznaků androgenizace podávání hormonální antikoncepce eventuelně s přídatkem antiandrogenně působících přípravků a ke zlepšení často přítomné inzulínové rezistence podávání metforminu. Pro mírné formy idiopatického hirsutismu je často nejvhodnějším řešením účinná kosmetická úprava.

Prognóza: Účinnost léčby se pohybuje okolo 80% u maskulinizačních příznaků, které se však většinou pouze zmírňují, ale neodstraní se úplně, pokud není odstraněna příčina (nádory). K dosažení stavu žádoucího pro ženy je vhodné u kožních příznaků použít zároveň kosmetické postupy.

Vybraná literatura

1. Diamanti-Kandarakis E, Papailiou J, Palimeri S. Hyperandrogenemia: pathophysiology and its role in ovulatory dysfunction in PCOS. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2006; Suppl 1: 198-204.
2. Cibula D, Stárka L, Vrbíková J. Syndrom polycystických ovarií. Maxdorf-Jessenius, Praha 2004, str. 121
3. Cibula D., Henzl MR, Živný J.: Základy gynekologické endokrinologie. Grada, Praha2002, str.340.
4. Fanta M, Cibula D, Vrbíková J, Bendlová B, Snajderová M. [Late (non-classic) adrenal hyperplasia]. *Česká Gynekol.* 2007; 72(2): 144-8
5. Mofid A, Seyyed Alinaghi SA, Zandieh S, Yazdani T. Hirsutism. *Int J Clin Pract.* 2008; 62(3): 433-43.
6. Pugeat M, Déchaud H, Raverot V, Denuzière A, Cohen R, Boudou P; French Endocrine Society. Recommendations for investigation of hyperandrogenism. *Ann Endocrinol (Paris).* 2010;71(1):2-7.
7. Stárka L. Hirsutismus. Farmakoterapie pro praxi. Maxdorf-Jessenius, Praha 2011, str.101.

1.3.3 Štítná žláza a neplodnost

Marie Karlíková, Ondřej Topolčan

Pro normální reprodukční schopnost žen i mužů je nezbytná fyziologická funkce štítné žlázy. Tato kapitola shrnuje údaje týkající se vlivu poruch štítné žlázy, tj. hypertyreózy (tyreotoxikózy), hypotyreózy a autoimunitních tyreopatií na reprodukční schopnost žen a činnost štítné žlázy ve vztahu k neplodnosti.

Hypertyreóza

Expozice tkání vysokým hladinám cirkulujících hormonů štítné žlázy způsobuje tyreotoxikózu. Nejčastější formou tyreotoxikózy, kde příčinou je nadměrná činnost štítné žlázy, je hypertyreóza. Je charakterizována sníženou hladinou tyrotropinu ([TSH](#)) a zvýšenou hladinou volného tyroxinu ([fT4](#)), volného trijodtyroninu ([fT3](#)) nebo obou zároveň. Pokud je snížená hladina TSH doprovázena normální hladinou fT4, jedná se o subklinickou hypertyreózu.

Hormonální změny

Tyreotoxikóza (hypertyreóza) je u žen dále charakterizována zvýšenými sérovými hladinami sexuální hormonu vázajícího globulinu ([SHBG](#)) a [estradiolu \(E2\)](#). Zatím není jasné, zda jsou změny v hladinách E2 způsobeny pouze zvýšením SHBG či zda dojde i ke změně hladiny volného E2. Dochází také ke změně v metabolismu androgenů ([testosteronu](#) a [androstendionu](#)): jejich plazmatické hladiny se zvyšují a roste podíl konverze androstendionu na estron a testosteronu na estradiol.

Několik publikací udává zvýšené hladiny luteinizačního hormonu ([LH](#)) u hypertyreózních žen. Údaje o hladinách folikuly stimulujícího hormonu ([FSH](#)) v literatuře jsou kontroverzní. Celkový přehled hormonálních změn u tyreotoxikózy a hypotyreózy (následující kapitola) uvádí tabulka 10.

Menstruační poruchy

Menstruační cyklus je ovlivněn tyreoidálními hormony (TH) jednak přímo působením TH na ovaria, jednak nepřímo působením TH na sekreci SHBG, [prolaktinu](#) a gonadoliberinu (GnRH) a na koagulační faktory.

Obvyklé poruchy menstruačního cyklu u hypertyroidních žen jsou amenorea, oligomenorea, hypomenorea, anovulace. Příčinou mohou být biochemické a hormonální abnormality, nutriční poruchy a emocionální výkyvy, které hypertyreózu doprovázejí.

Menstruační poruchy u hypertyreózy jsou přibližně 2,5krát častější než u eutyroidních žen. Současná data ukazují na nižší prevalenci než v dřívějších publikacích, díky dřívější detekci a léčbě hypertyreózy. Kouření negativně ovlivňuje vznik menstruačních poruch.

Tabulka 10. Přehled hormonálních změn při tyreotoxikóze a hypotyreóze u žen (upraveno podle Krassas et al. 2010). SHBG = sexuální hormony vázající globulin, DHEA = dehydroepiandrosteron, LH = luteinizační hormon, FSH = folikuly stimulační hormon, GnRH = gonadotropiny uvolňující hormon.

	Tyreotoxikóza	Hypotyreóza
SHBG	↑	↓
Estradiol	↑	↓
Estron	↑	↓
Rychlost tvorby estrogenů	→	→ nebo ↓
Rychlost metabolického vylučování estrogenů a androgenů	↓	↓
Volný estradiol	→	N
Testosteron	↑	↓
Androstendion	↑	↓
DHEA	↑	
Volný testosteron		N
Biologicky aktivní testosteron		
Přeměna testosteronu na androstendion	→ nebo ↑	↑
Přeměna androgenu na estron	↑	
Progesteron	↓ nebo →	↓ nebo →
LH	↑ nebo →	N
FSH	↑ nebo →	N
Po stimulaci GnRH		
LH	↑	↓
FSH	↑	↓

Vysvětlivky: ↑ - zvýšení, ↓ - snížení, → - beze změny, N - normální, - chybí data

Fertilita

Tyreotoxikóza u žen je spojována se sníženou plodností, ačkoliv většina tyreotoxických žen má zachovanou ovulaci (Poppe et al. 2002). Joshi et al. v roce 1993 publikoval 5.8% primárně či sekundárně neplodných žen o 53 hypertyroidních pacientech; toto číslo však odpovídá procentu neplodných žen v normální populaci. Přesná role tyreotoxikózy v neplodnosti je zatím nejasná.

Terapie hypertyreózy I¹³¹

Studie ukazují, že reprodukční zdraví žen léčených I¹³¹ je normální. Z toho vyplývá, že léčba nepředstavuje významný faktor poškození gonád, ačkoliv se doporučuje zabránit otěhotnění až do 6 měsíců po skončení terapie, aby byla jistota, že nedojde k hypotyreóze, která by mohla negativně ovlivnit průběh těhotenství.

Hypotyreóza

Hypotyreóza je snížená funkce štítné žlázy při nedostatečné sekreci tyreoidálních hormonů, často k ní dochází autoimunitními procesy, někdy se vyskytuje po operaci štítné žlázy či po terapii I^{131} . Subklinická hypotyreóza je definována jako zvýšená koncentrace **TSH** spolu s normální koncentrací **fT4**.

Hormonální změny

Hypotyroidní ženy mají sníženou clearanci **androstendionu** a estronu a zvýšenou periferální aromatizaci. Vazebná funkce **SHBG** je snížena, z toho vyplývají snížené koncentrace celkového **testosteronu** a **estradiolu** v plazmě, ale jejich volné frakce jsou zvýšené. Poměr **LH/FSH** je normální, byla publikována zpožděná odpověď LH na stimulaci GnRH u některých hypotyroidních žen. Sérové hladiny prolaktinu mohou být zvýšeny vlivem zvýšené hypotalamické sekrece tyreotropin uvolňujícího hormonu (TRH). Přehled hormonálních změn je uveden v tabulce 10.

Menstruační poruchy

U žen ve fertilním věku se vlivem hypotyreózy mění délka menstruačního cyklu a intenzita krvácení, (oligomenorea, amenorea, polymenorea, menoragie).

Publikované studie ukazují na třikrát větší výskyt menstruačních poruch u hypotyroidních žen než u eutyroidních. Současná data udávají nižší prevalenci než v dřívějších publikacích, díky dřívější detekci a léčení hypotyreózy. Podle současných publikací je nejčastější poruchou menstruačního cyklu oligomenorea. Léčba hypertyreózy obvykle upraví tyto poruchy.

Přítomnost tyreoidálních protilátek se neukázala být významným faktorem při vzniku poruch menstruačního cyklu.

Fertilita

Častým nálezem u žen s hypotyreózou je anovulace. Podle nedávné studie mají neplodné ženy a zejména ženy s ovariální dysfunkcí vyšší průměrnou hladinu TSH než kontrolní populace (Pope et al. 2002). Bylo zjištěno, že T4 stimuluje činnost gonadotropinů při luteinizaci a produkci progesteronu v granulózových buňkách ovarií. Nízká hodnota T4 v ovariích může tedy přispívat k ovariální dysfunkci.

Autoimunitní tyreopatie

V tomto případě se nejedná o hormonální příčinu, nýbrž o imunologickou příčinu neplodnosti; imunologickým příčinám se věnuje kapitola 1.4. Avšak autoimunitní tyreopatie úzce souvisí se štítnou žlázou, proto jsme toto téma zařadili právě sem.

U neplodných žen je výskyt autoimunitních tyreopatií signifikantně vyšší než u žen s normální plodností (Poppe et al. 2007). To platí zejména pro neplodnost způsobenou endometriózou, PCOS nebo předčasným ovariálním selháním. Pokud ženy s autoimunitní tyreopatií otěhotní díky asistované reprodukci, mají větší riziko potratu v 1. trimestru než ženy bez této poruchy.

U autoimunitních tyreopatií bývají zvýšené hladiny [tyroidálních protilátek](#) – proti tyreoidální peroxidáze ([anti-TPO](#)) a proti tyreoglobulinu ([anti-Tg](#)). Pro diagnostiku se užívá stanovení anti-TPO jako markeru autoimunity. Protilátky proti tyreoglobulinu mají podstatně menší diagnostický přínos, vyšetřují se pouze u podezření na autoimunitní tyreoiditidu při negativitě anti-TPO. Potvrzení zvýšené hladiny anti-TPO nebo anti-Tg stačí jednou za život, dynamika jejich titru nemá prognostický význam a nesleduje se. (Límanová et al. 2008).

Vybraná literatura

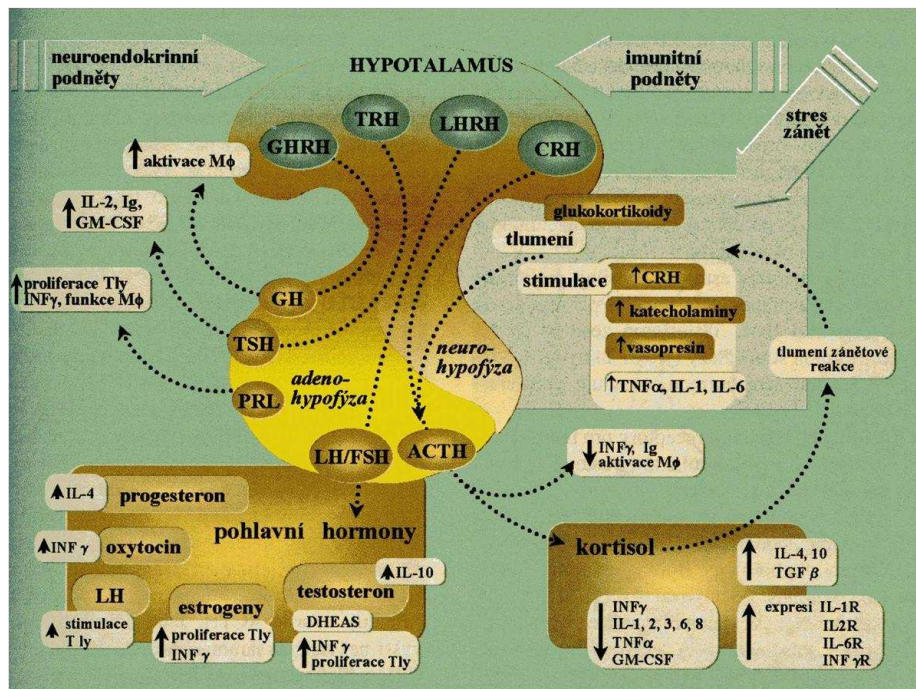
1. Cramer DW, Sluss PM, Powers RD, et al. Serum prolactin and TSH in an in vitro fertilization population: is there a link between fertilization and thyroid function? J Assist Reprod Genet 2003; 20:210–215.
2. Joshi JV, Bhandarkar SD, Chadha M, et al. Menstrual irregularities and lactation failure may precede thyroid dysfunction or goitre. J Postgrad Med 1993; 39:137–141.
3. Krassas GE, Poppe K, Glinoe D. Thyroid function and human reproductive health. Endocr Rev. 2010 Oct;31(5):702-55.
4. Límanová Z, Laňková J, Zamrazil V. Funkční poruchy štítné žlázy. Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře 2008. On line na www.svl.cz.
5. Poppe K, Velkeniers B, Glinoe D. Thyroid disease and female reproduction Clin Endocrinol (Oxf). 2007 Mar;66(3):309-21.
6. Poppe K, Glinoe D, Van Steirteghem A, et al. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. Thyroid 2002; 12:997–1001.
7. Trokoudes KM, Skordis N, Picolos MK. Infertility and thyroid disorders. Curr Opin Obstet Gynecol. 2006 Aug;18(4):446-51.
8. Unuane D, Tournaye H, Velkeniers B, Poppe K. Endocrine disorders & female infertility. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011 Dec;25(6):861-73.

1.4 Imunologické vyšetření při snížené plodnosti

Zdenka Ulčová-Gallová

Úkolem reprodukční imunologie je hledat další příčinu snížené plodnosti, příčinu imunologickou, která je výsledkem souhry neuro-endokrinních vazeb. Tato kapitola chce upozornit na současné možnosti vyšetřování buněčné a protilátkové imunity s ohledem na lidskou fertilitu.

Jedním z důvodů snížené lidské plodnosti může být i příčina imunologická, která většinou nebývá samostatná, ale doprovází jinou příčinu selhávání v reprodukci. Je to proto, že i lidské rozmnožování podléhá hmatatelně neuroendokrinně imunitním vztahům (Obrázek 10). Nejsou-li tyto vztahy v rovnováze, jsme svědky poruchy, onemocnění, dysbalance, a to nejen v reprodukci.



Obrázek 10. Neuro-endokrinně-imunitní systém (převzato z Krejzek a Kopecký, 2004⁵).

U selhávající reprodukce z imunologického hlediska se zaměřujeme na poruchy¹⁻³¹:

- protilátkové (humorální) imunity, tj. patologickém výskytu protilátek proti spermiím, zona pellucida, trofoblastu, hormonům štítné žlázy, fosfolipidům, nedostatek blokujících protilátek apod.
- buněčné imunity, jako jsou selhávající buněčná imunologická regulace, snížená imunologická tolerance, nadměrný výskyt embryocytotoxických cytokinů, deficit nebo nadměrná reakce supresorových buněk, exprese hlavního histokompatibilního antigenu, apod.

1.4.1 Indikace k vyšetření

Indikací k vyšetření může být doposud nevysvětlitelná primární nebo sekundární neplodnost, potráčivost, opakované selhávání in vitro fertilizace (IVF), po 2 neúspěšných IVF cyklech, předchozí nebo současná preeklampsie, porod hypotrofického plodu, endometrióza, autoimunitní choroba, hematologické či onkologické onemocnění, věkový faktor apod., a andrologická příčina. Většinou ji určuje gynekolog- porodník, genetik, androlog, ale i jiný odborník (revmatolog, internista, genetik, sexuolog, hematolog,), který pár i z hlediska snížené plodnosti zná a má ho jinak důkladně vyšetřen.

1.4.2 Laboratorní metody

V současné době se v reprodukční imunologii uplatňuje celá řada mezinárodních konvenčních laboratorních vyšetřovacích postupů (mikroaglutinační testy, ELISA metody, imunofluorescenční mikroskopie apod.) k odhalení imunologické příčiny neplodnosti lokální i „generalizované“.

Immunoanalytickými metodami se stanovují [tyreoidální protilátky](#) (anti-TPO, anti-Tg), hormony ([gonadotropiny](#), [tyreoidální hormony](#), [prolaktin](#), [testosteron](#), [estrogeny](#),...) a cytokiny. Pro výzkumné účely existují multiplexové soupravy pro stanovení cytokinů, tyreoidálních hormonů a dalších hormonů technologií xMAP.

1.4.3 Možnosti vyšetření

Žena

Protilátková imunita

U žen vyšetřujeme vyhledávacími testy protilátkovou aktivitu v izotypu IgG, IgA a IgM v séru, v ovulačním sekretu hrdla děložního, nyní výjimečně i ve folikulární a peritoneální tekutině.

Sledujeme především protilátky proti:

- rozplzovacím buňkám (spermiím, vajíčku),
- ovariím,
- zona pellucida
- trofoblastu,
- fosfolipidům (antifosfolipidové protilátky, APA: (fosfatidylserin, kyselina fosfatidová, fosfatidylinositol, fosfatidyletanolamin, kardiolipin, beta2-glykoprotein 1 (beta2-GP1), annexin V, fosfatidylglycerol apod.)
- hormonům štítné žlázy - tyreoperoxidáze (anti-TPO) a tyreoglobulinu (anti-Tg).

Vyšetřujeme též následující hormony FSH, LH, prolaktin, testosteron a estrogény. V současné době se zaměřujeme i na celkové IgA a IgA-transglutaminázu.

Podle charakteru základního onemocnění pacientky a laboratorních výsledků, např. podle vysoce pozitivních nálezů v profilu antifosfolipidových protilátek, rozšiřujeme vyšetření o sledování dalších imunologických parametrů:

- antinukleárních faktorů,
- protilátek proti protrombinu,
- protilátek proti lamininu

a vyšetření některých cytokinů, především embryocytotoxických (TNF- α , IGF- γ , IL-6).

Buněčná imunita

A/ Sledování **periferní buněčné imunity lymfocytů** především se znaky CD-3, CD-4, CD-8, CD-19, CD-5, CD56, CD16 a jejich regulace má pro všechny ženy se sníženou plodností jen omezený význam(!) s výjimkou pacientek se základním autoimunitním onemocněním nebo pacientek opakovaně potrácejících (po 4 a více potratech), u kterých byly vyloučeny ostatní příčiny těhotenských ztrát včetně genetických (preimplantační genetická diagnostika), nebo žen s opakovaným implantačním selháváním. NK buňky, tzv. „přirození buněční zabíječi“, se podílejí na buněčné apoptóze především při infekci a onkologické atace. Jejich účast na „napadení“ embrya je prokázána v lokálním, uterinním nálezu buněčné imunity, především v podobě buněk se znaky CD 57+ na endometriu u pacientek se sníženou plodností²⁹. NK buňky dělohy sice mají významné postavení při implantaci časného embrya, ale nevyváženost jejich počtu a aktivity vede k selhání vývoje časně gravidity.

Protože se ale periferní buněčná aktivita nikdy neshoduje s tou lokální, domnívám se, že sledovat celkovou buněčnou imunitu u žen s výjimkou výše uvedenou nemá praktický význam (je to jen zátěž laboratoře a příslušné pojišťovny). Počet a aktivita NK buněk v krvi neřekne nic o NK buňkách v dutině děložní, a to zvláště v době pre- a nebo post -implantační.

Některá pracoviště (Holandsko, Francie)⁸ u pacientek s opakovanými IVF implantačními selháváním odebírají v době těsně před přenosem embrya nepatrnou část sliznice děložní k imunocytologickému vyšetření právě k určení lokálních NK buněk. Jedná se ale o zcela ojedinělé případy, neboť jednoduchý výkon je zatížen řadou komplikací (např. infekcí). V současné době se o podobné analýzy pokoušejí i některá dlouhodobě zaběhnutá centra IVF v České republice.

B/ Vyšetření **trombofilních genetických faktorů** sice nepatří do reprodukční imunologie jako takové, ale považuji je za indikované především u opakovaných doposud nevysvětlených těhotenských ztrát¹⁹.

Muž

Protilátková imunita

U mužů se rutinně sledují protilátky proti spermiím nejčastěji v izotopu IgG a IgA v sérech a v seminální plazmě.

Buněčná imunita:

Vycházíme především z vyšetření ejakulátu dle WHO²⁹, při čemž mezi základní vyšetření klasicky patří: objem semene, pH, počet spermií na ml, charakter pohybu a vitalita spermií, přídatná buněčnost – leukocyty, erytrocyty apod., bývá rozšířeno dle potřeby i o kultivaci ze seminální plazmy, o výsledky celkových hladin [FSH](#), [LH](#) a [inhibinu B](#) a o významné vyšetření intra-akrozomálních enzymů¹⁵.

Sledování buněčné imunity namířené proti spermiím^{1,2,9} je významné vyšetření pro ejakuláty u mužů pocházejících především z párů se sníženou plodností nebo u dárců spermií. Výzkumně jsme se zaměřili i na stanovení cytokinů v seminální plazmě mužů z neplodných párů²⁸. V naší studii byly v patologických vzorcích seminální plazmy často detekovány spermie s patologickými hlavičkami a velmi nízké hladiny akrozomálních proteinů. Byly zde také nalezeny vysoké hladiny cytokinů IL-8, IL-5, IL-6 a IL-10. Vysoká buněčnost korelovala s vyšší hladinou IL-5. Studie naznačila význam sledování cytokinů v souvislosti s protilátkami a intra-akrozomálními faktory v seminální tekutině.

Ostatní imunologická vyšetření (nespecifické a specifické imunity) u mužů plánujeme přísně individuálně s ohledem na základní onemocnění, např. autoimunitní nebo urologická.

Pár

HLA (Human Leukocyte Antigen) typizace

Ve zcela výjimečných případech (např. pokud je pár zatížený více než pěti potraty a bez doposud vysvětlené příčiny selhávání v reprodukci) lze vyšetřit kompatibilitu (inkompatibilitu) v základních sestavách HLA pomocí polymerázové řetězové reakce se sekvenčně specifickými primery (PCR-SSP) anebo přímým sekvenováním (SBT). Podobnost páru v hlavním histokompatibilním systému povede k vysvětlení např. chybějících blokujících protilátek, tak důležitých při imunologické toleranci matka-semi- nebo dokonce alogenní plod.

1.4.4 Závěr a perspektivy v reprodukční imunologii

Na základě poznatků současných možností vyšetření¹⁻³¹ lze usuzovat na význam podílu imunopatologických mechanismů na snížení reprodukčních schopností člověka. Využití stávajících diagnostických metod a ovlivnění funkcí imunitního systému má své nezastupitelné místo v péči o neplodné páry.

Perspektiva oboru směřuje stále ke zdokonalování imuno-biochemicko-genetických metod především v oblasti sledování kvality germinativních buněk, embrya a implantační schopnosti endometria. K tomu všemu potřebujeme významné výsledky také i z imunoanalytických postupů.

Vybraná literatura

1. Dimitrov DG, Urbánek V., Zvěřina J., Madar J., Nouza K., Kinský R. Correlation of asthenozoospermia with increased antisperm cell-mediated immunity in men from infertile couples. *J Reprod Immunol.* 1994, 27, p.3-12.
2. Drahošová M., Madar J., Janatková I., Jančovičová K.: Diagnostic infertility –immunological laboratory markers. *J.Reprod. Immunol.* 2009, 81, 2, p.168-169.
3. Fialová L, Kalousová M, Soukupová J, Malbohan I, Madar J, Frisová V, Stípek S, Zima T. Markers of inflammation in preeclampsia. *Prague Med Rep.* 2004,105, p.301-10.
4. Gilman-Sachs A, DuChateau BK, Aslakson CJ, Wohlgemuth GP, Kwak JY, Beer AE, Beaman KD. Natural killer (NK) cell subsets and NK cell cytotoxicity in women with histories of recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol.* 1999 , 41, p. 99-105.
5. Krejsek J., Kopecký O.: *Klinická imunologie*, 2004, Nucleus, s.1- 930
6. Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, Beer AE, Gilman-Sachs A. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Human Reproduction*, 2003, 18, p.767-73.
7. Kwak-Kim J, Yang KM, Gilman-Sachs A. Recurrent pregnancy loss: a disease of inflammation and coagulation. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009, 35, p. 609-22.
8. Kwak-Kim, J. and Gilman-Sachs, A. Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am. J. Reproductive Immunology*,2008, 59, p.388-400.
9. Ledée-Bataille N. – ústní podání, XI th International congress of reproductive immunology, Palm Cove, Queensland, Australia, August 15-19, 2010.
10. Madar J., Urbánek V., Chaloupková A., Nouza K., Kinský R: Úloha protilátkové a buněčné autoimunity proti spermii v patogenezi mužské neplodnosti. *Čes. Gynek.*, 67, 2002, s. 3-7.
11. Madar J, Pěkníková J, Šůla K, Tolarová M, Nováková D, Kinský R.: Anti-trophoblast and anti cardiolipin immunity in repeated miscarriages-diagnosis and treatment. *J Reprod Immunol* 2003, 58, 179-183.
12. Madar J, Nouza K, Nováková D.: Imunologické aspekty habituálního potrácení: *Mod gynekol porodn* 2002, 11, s. 621-627.

13. Mardesic T, Ulcova-Gallova Z, Huttelova R, Muller P, Voboril J, Mikova M, Hulvert J. The influence of different types of antibodies on in vitro fertilization results. *Am J Reprod Immunol.* 2000, 43, s.1-5.
14. Meroni PL, Gerosa M, Raschi E, Scurati S, Grossi C, Borghi MO. Updating on the pathogenic mechanisms of the antiphospholipid antibodies-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008, 34, p.332-7.
15. Mettler L, Bachmann J, Schmutzler A. High prevalence of markers for immunological disorders in IVF patients. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004, 86, p. 59-60.
16. Peknicova J, Chladek D, Hozak P. Monoclonal antibodies against sperm intra-acrosomal antigens as markers for male infertility diagnostics and estimation of spermatogenesis. *Am J Reprod Immunol,* 2005, 53, p. 42-9.
17. Pribylova P, Malickova K. Peripheral Blood Natural Killer Cell Assay in Infertile Women. *Prague Med Rep.* 2008, 108, p.298-304.
18. Purvis MT, Kaider BD, Roussev RG, Coulam CB. Antinuclear antibody prevalence in patients with reproductive failure. *Am J Reprod Immunol,* 1996, 35, p.463-468.
19. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cabin RH, El-Harazy E, Alvarez-Marfany M, Davies TF. Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid antibodies. *JAMA* 1990, 264, p.1422-1425.
20. Subrt I, Ulcova-Gallova Z, Bibkova K, Micanova Z, Hejnalova M, Cerna M, Hradecky L, Novotny Z. Recurrent pregnancy loss and frequency of eight antiphospholipid antibodies and genetic thrombophilic factors in Czech women. *Am J Reprod Immunol,* 2008, 59, p.193-200.
21. Suchá R, Ulcová-Gallová Z. Follicular fluid and its properties. *Ceska Gynekol.,* 2000, 65, s.181-8.
22. Szekeres-Bartho J. Regulation of NK cell cytotoxicity during pregnancy. *Reprod Biomed Online,* 2008, 16, p. 211-7.
23. Ulcová-Gallová Z, Bouse V, Krizanovská K, Balvín M, Rokyta Z, Netrvalová L. Beta 2-glycoprotein I is a good indicator of certain adverse pregnancy conditions. *Int J Fertil Womens Med. ,* 2001, 46, p. 304-8.
24. Ulcova-Gallova Z, Krauz V, Novakova P, Milichovska L, Micanova Z, Bibkova K, Sucha R, Turek J, Balvin M, Rokyta Z. Anti-phospholipid antibodies against phosphatidylinositol, and phosphatidylserine are more significant in reproductive failure than antibodies against cardiolipin only. *Am J Reprod Immunol.* 2005, 54, 112-7.
25. Ulcova-Gallova Z, Mukensnabl P, Hadravska S., Kyselova V., Slechtova J., Micanova Z., Bibkova K., Balvan M., Rokyta Z.: Antibodies Against Annexin V and Prothrombin, Their Correlation with Other Antiphospholipid Antibodies in Recurrent Pregnancy Loss. *J.Reprod.&Contraception* 16, 2005, p. 35-46.
26. Ulcova-Gallova Z. Antiphospholipid antibodies and reproductive failure. *Chem Immunol Allergy.* 2005, 88, p. 139-49.
27. Ulcová-Gallová Z. : Neplodnost – útok imunity. Grada, 2006, s. 1-144.
28. Ulcova-Gallova Z, Gruberova J, Vrzalova J, Bibkova K, Peknicova J, Micanova Z, Topolcan O. Sperm antibodies, intra-acrosomal sperm proteins, and cytokines in semen in men from infertile couples. *Am J Reprod Immunol.* 2009 Mar;61(3):236-45.

29. Vanciková Z, Chlumecký V, Sokol D, Horáková D, Hamsíková E, et al. The serologic screening for celiac disease in the general population (blood donors) and in some high-risk groups of adults (patients with autoimmune diseases, osteoporosis and infertility) in the Czech republic. *Folia Microbiol (Praha)*, 2002, 47, p.753-8.
30. World Health Organization. Laboratory manual for estimation of human semen and semen cervical mucus interaction. 3 ed. Cambridge: University Press, 1999, pp.1-139.
31. Winger EE: CD57+ cells and recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* .,2007, 58, p.311- 314.

1.5 In vitro fertilizace

Radek Kučera

Asistovaná reprodukce zahrnuje všechny metody, léčebné postupy a techniky, které vyžadují manipulaci se zárodečnými buňkami (oocyty, spermie). Imunoanalytické laboratorní metody pomáhají v metodách asistované reprodukce především stanovením hormonálních hladin u žen, které mají problémy s otěhotněním. Nejvíce jsou tyto metody využívány při léčbě neplodnosti nazývané IVF (*in vitro* fertilizace).

1.5.1 IVF

In vitro fertilizace je nazýváno také mimotělní oplodnění nebo oplodnění ve zkumavce. Poprvé byla tato metoda úspěšně použita v roce 1978. Metoda je vhodná pro případy ženské neplodnosti s neprůchodností vejcovodů, pro těžší případy mužské neplodnosti a pro některé další případy neplodnosti zejména imunologické povahy.

IVF spočívá v hormonální stimulaci ovarií pacientky k vývoji a dozrání většího počtu vajíček v pokud možno obou ovariích. Vajíčka se po dosažení optimálního stupně vývoje získávají z ovarií transvaginální punkcí a aspirací. Získaná vajíčka se ve zkumavce smísí se speciálně upravenými spermii z ejakulátu jejího partnera event. dárce. V případě speciální mikromanipulační techniky zvané ICSI (intracystoplazmatická injekce spermie) se předem upravené spermie injikují pod mikroskopem do cytoplazmy vajíčka (jedna spermie do jednoho vajíčka). Druhý den embryolog kontroluje oplození. Oplozená vajíčka se kultivují za speciálních podmínek a vyvíjejí se v embrya. Po několika dnech kultivace (většinou 2-5 dnů) se nejlepší embrya přenesou do dělohy ženy. Nejčastěji se transferují do dělohy dvě embrya. Zbylá embrya je možno zamrazit a uchovat pro pozdější použití.

Vyšetření hladin hormonů

Jedním z vyšetření před zařazením do IVF cyklu je **stanovení hormonálního profilu** ze vzorku krve. Hormonální profil pomůže odhalit příčinu neplodnosti způsobenou nerovnováhou v hladinách hormonů. Přehled stanovovaných hormonů je uveden v tabulce 11.

Tabulka 11. Hormonální profil stanovovaný před IVF. FSH = folikuly stimulující hormon, LH = luteinizační hormon, DHEAS = dehydroepiandrosteron sulfát, SHBG = sexuální hormony vázající globulin, TSH = tyrotropin, FT4 = volný tyroxin, FT3 = volný trijodtyronin, anti-TPO = protilátky proti tyreoidální peroxidáze

Hormon (cílový orgán)	Vyšetřovaný materiál Postup	Zdůvodnění
FSH a LH	sérum Prováděno od 2. do 6. dne cyklu	K vyloučení selhávání ovarií. Abnormální hladiny FSH a LH mohou ukazovat na neplodnost způsobenou hyperprolaktinemií. Poměr LH-FSH může být užitečný v diagnostice PCOS (syndromu polycystických ovarií) a ve výběru vhodné léčby.
Prolaktin	sérum Obvykle prováděno 2.-6. den cyklu.	Hyperprolaktinémie blokuje působení LH a FSH. Vysoké hladiny mohou znamenat přítomnost nádoru hypofýzy a způsobují menstruační a ovulační poruchy.
Estradiol (Ovarium)	sérum Obvykle prováděno 2.-6. den cyklu.	Stanovení funkce ovarií. Hladiny se užívají ke sledování vývoje folikulů.
Testosteron (Ovarium)	sérum Den cyklu není přesně určen.	K vyloučení virilizace. Vysoká hladina může ukazovat na možný tumor ovarií či nadledvin nebo na PCOS. Hladinu též zvyšují některá antikonvulziva (barbituráty, klomifen).
Progesteron (Ovarium)	sérum Prováděn 21. den cyklu (7 dní po ovulaci).	Prokazuje přítomnost ovulace. Používá se k rozlišení adekvátnosti luteální fáze.
DHEAS, kortizol, androstendion, 17-hydroxyprogesteron, SHBG (nadledviny)	sérum Obvykle prováděno 2.-6. den cyklu.	Ke stanovení produkce androgenů. Příliš vysoké hladiny mohou být důvodem neplodnosti u žen. Příliš nízké hladiny mohou být důvodem neplodnosti u mužů. Lze rozlišit původ nadměrné sekrece androgenů.
TSH, FT3, FT4, anti-TPO (štítná žláza)	sérum Den cyklu není přesně určen.	Užívá se k diagnóze snížené činnosti štítné žlázy, která může vést k málo časté ovulaci.
AMH	sérum Den cyklu není přesně určen.	Užívá se ke stanovení ovariální rezervy. Umožňuje stanovení individuálního IVF protokolu a minimalizovat tím riziko OHSS (ovariálního hyperstimulačního syndromu).

1.5.2 IVF – jednotlivé fáze

1. fáze – stimulace ovaríí a vyvolání ovulace

V této fázi se nejprve provádí stimulace ovaríí (viz kap. 1.4.4). Pomocí hormonálních preparátů se zvýší tvorba a zrání vajíček v ovaríích. Správná doba stimulace je stanovena pomocí ultrazvukového nebo hormonálního vyšetření.

2. fáze – odběr oocytů

Po ukončení stimulace ovaríí se odebere co nejvyšší počet vajíček, i když ne všechna vajíčka bude možno použít. Tento odběr vajíček se provádí v celkové anestezii. Zralé folikuly jsou zobrazeny pomocí ultrazvuku a poté se jejich obsah odsaje pomocí jehly zavedené do pochvy. Obsah je ihned vyšetřen, aby se ukázalo, zda bylo odebráno vajíčko. Tento proces je opakován u každého zralého folikulu na obou ovaríích. Tentýž den se začne ženě podávat progesteron do pochvy, který pomáhá připravit děložní výstelku pro oplodněné vajíčko.

3. fáze – inseminace a inkubace oocytů

Přibližně 2 hodiny před odebráním vajíček je partnerovi odebráno sperma, které se dále zpracovává. Vybírají se nejsilnější a nejaktivnější spermie. Poté jsou do inkubátoru umístěna vajíčka spolu se spermii při teplotě 37°C. Následující den se zjišťuje, zdali jsou vajíčka oplodněna. Pokud je vajíčko oplodněno, je možné ho umístit do dělohy zhruba za 72 h.

4. fáze – transfer embrya

Embrya jsou umístěna do pipety a přenesena do dělohy. Množství přenesených embryí (obvykle 2 – 3) závisí na mnoha faktorech, jako je věk ženy, průběh eventuálního předchozího těhotenství, příčiny neplodnosti atd.

1.5.3 IVF protokoly

Za normálních podmínek v ovaríích ženy dozrává každý měsíc pouze jedno vajíčko. Aby se zvýšila šance na úspěšné IVF, provádí se při mimotělním oplodnění hormonální léčba, která způsobí, že dozraje větší počet vajíček najednou. Průběh a efekt hormonální stimulace na oocyty se sleduje za pomoci ultrazvuku a současně se sledují koncentrace hormonů v séru.

Pro stimulaci ovaríí se používají **gonadotropiny**. Aby při hormonální stimulaci nedošlo k předčasné ovulaci, aplikují se současně s injekcemi podporujícími růst vajíček i **analoga gonadoliberinu (GnRH)**, která utlumí funkci hypofýzy a tím zabrání vyplavení **LH**, který je odpovědný za uvolnění vajíček z folikulu.

Analoga gonadoliberinu:

Agonisté (GnRH-a)

Antagonisté

K hormonální stimulaci ovarií pro IVF se užívá několik typů protokolů. K výběru typu hormonální stimulace je nutné přistupovat u každé ženy individuálně. Při nízké odpovědi ovarií se doporučuje ultrakrátký a krátký protokol, při normální odpovědi se dává přednost dlouhému protokolu nebo stimulaci s antagonisty.

Přehled protokolů:

- ultrakrátký
- krátký
- dlouhý z folikulární fáze
- dlouhý z luteální fáze
- s antagonisty GnRH-a

Ultrakrátký protokol:

Tento způsob hormonální stimulace se doporučuje zejména pro ženy s nízkou odpovědí ovarií. Využívá se zde počátečního účinku analoga gonadoliberinu (GnRH-a), který v průběhu prvních několika dní aplikace působí na ovaria stimulačně (tzv. "flare up" efekt), protože dochází ke stimulaci hypofýzy a tím k tvorbě [FSH](#), který působí stimulačně na růst folikulů. První a třetí den cyklu se užívá GnRH-a. Od 2. dne se podávají injekce s obsahem FSH. Když mají největší folikuly v průměru 16–18 mm, aplikuje se pro uvolnění oocytů 10 000 IU [hCG](#) v nitrosvalové injekci. Za 34–36 hodin po aplikaci hCG se provádí odběr vajíček. Nevýhodou tohoto protokolu je, že není vyloučena možnost předčasné ovulace. Proto se nepoužívá příliš často.

Krátký protokol:

Tento způsob stimulace se liší od předchozího v tom, že GnRH-a se podávají déle současně s injekcemi FSH. Dlouhodobou aplikací GnRH-a dojde k útlumu funkce hypofýzy a tím by se mělo předejít předčasnému uvolnění vajíčka z folikulů. Pro krátký protokol se aplikuje GnRH-a od 2. dne cyklu. Od 3. dne se pak aplikují injekce gonadotropinů, obvykle 150–280 IU denně. Tento protokol je vhodný u žen s nižší reakcí ovarií na hormonální léčbu.

Dlouhý protokol z folikulární fáze:

První nebo druhý den menstruačního krvácení se aplikuje GnRH-a s dlouhodobým účinkem nebo se GnRH-a užívá denně od 1. až 2. dne cyklu. Za 14–18 dnů se provádí ultrazvukové vyšetření, při kterém se hodnotí děložní sliznice. Ta by neměla být vyšší než 4 mm a ovaria by neměla obsahovat žádné cysty ani folikuly větší než 10 mm. Pokud je sliznice vyšší než 4 mm, provádí se odběr krve, jímž se stanoví hladina estradiolu, která by neměla přesahovat 50

pg/ml. Při odpovídajícím ultrazvukovém nálezu a hladině estradiolu je možné aplikovat gonadotropiny. Další postup je stejný jako při krátkém protokolu.

Dlouhý protokol z luteální fáze:

Při tomto protokolu se 22. den cyklu aplikuje GnRH-a a s touto aplikací se pokračuje během celého cyklu. Od pátého dne cyklu se začíná s aplikací gonadotropinu a po dosažení správné velikosti folikulu se aplikuje hCG a realizuje odběr.

Protokol s antagonisty:

V protokolu s antagonisty se začínají podávat gonadotropiny druhý nebo třetí den cyklu. Po čtyřech až pěti dnech léčby se provádí ultrazvukové vyšetření. Jestliže jsou v ovariích již folikuly větší než 12 mm, začne se aplikovat antagonistu GnRH-a. Další postup je totožný jako v protokolech předchozích. Když při ultrazvukovém vyšetření dosáhne průměr největšího folikulu nejméně 16 mm, aplikuje se ženě hCG. Za 34–36 hodin po aplikaci hCG se provádí v celkové anestezii odběr vajíček.

1.5.4 Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS)

Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS) vzniká jako komplikace stimulace ovarií exogenními gonadotropiny při IVF. Organismus ženy reaguje intenzivně na podaný hCG a rostou a dozrávají větší počty folikulů. Podle závažnosti jde téměř vždy o mírné postižení. Těžké případy OHSS vyžadující hospitalizaci se objevují v méně než 1% stimulovaných cyklů. Výskyt závisí na protokolech stimulace, na věku pacientek a jejich diagnóze. Patofyziologie není zatím zcela objasněna. Terapie je jen symptomatická. K prevenci závažných případů je třeba včas aplikovat preventivní opatření – nepodávat hCG k indukci ovulace, případně netransferovat embrya v cyklu stimulovaném k IVF. Určitým preventivním opatřením je též stanovení hladiny antimülleriánského hormonu (AMH) před volbou IVF protokolu. Podle koncentrace AMH v séru je možné predikovat ovariální odpověď na hormonální stimulaci a volit dávky gonadotropinů.

Vybraná literatura

1. Olivar AC: In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET). In: Wild D (Ed.): The Immunoassay Handbook, 3rd ed., Elsevier 2005, pp 580-585.
2. Tan R, Pu D, Liu L, Liu J, Wu J. Comparisons of inhibin B versus antimüllerian hormone in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril. 2011 Oct;96(4):905-11.

2. TĚHOTENSTVÍ

V průběhu těhotenství dochází v mateřském organismu k rozsáhlým změnám, které umožňují adaptaci matky na těhotenství a především zdárný vývoj plodu. Plod i placenta produkují množství látek, které jsou kvalitativně i kvantitativně specifické pro těhotenství. Stanovení hladin těchto látek je využíváno v diagnostice různých poruch v těhotenství. I mateřské tkáně jako endometrium, ovaria a další produkují látky využitelné pro diagnostiku.

Hormonálním změnám v těhotenství se věnuje kapitola 2.1. V kapitole 2.2 jsou podrobně diskutovány poruchy štítné žlázy a otázka screeningu štítné žlázy v těhotenství. Kapitola 2.3 se zabývá různými typy screeningů využívaných pro prevenci vývojových a metabolických vad plodu i novorozence.

2.1 Hormonální změny v těhotenství

Ondřej Topolčan

V prvních týdnech těhotenství nepoklesne hladina hormonů [progesteronu](#) a [estrogenu](#), jak je to obvyklé ve druhé polovině menstruačního cyklu, nýbrž dále stoupá na vysokou úroveň, na které zůstane během celého těhotenství. Tyto hormony zajišťují růst a vývoj plodu a zároveň jsou zodpovědné za tělesné a duševní změny u budoucí matky.

Čtyři důvody, proč je nutné znát hormonální změny v těhotenství

- A/ Pochopení fyziologické adaptací, ke kterým v těhotenství dochází
- B/ Diagnostika komplikací těhotenství
- C/ Diagnostika endokrinních chorob v těhotenství
- D/ Kontrola správného vývoje plodu

2.1.1 Celková adaptace organismu v těhotenství

V těhotenství dochází k výrazným změnám, což je především důsledek činnosti adaptivních mechanismů.

Nárůst hmotnosti

V průměru dochází k nárůstu o 12,5 kg:

- plod 3,4 kg,
- placenta 0,65 kg,
- amniotická tekutina 0,8 kg,
- děloha 1 kg,
- prsa – nárůst o 0,4 kg,
- nárůst krevního objemu o cca 1,5 kg,

- nárůst množství extravaskulární tekutiny o 1,5 kg,
- zvětšení objemu tukové tkáně o 3,3 kg.

Objem děložní dutiny se změní z 10 ml na 5 l

Krevní oběh

- Krevní plazma - nárůst objemu o 45 -50 %
- Krevní elementy - vzestup jen o 20%
- Hematokrit - pokles cca o 15 %
- Osmolarita séra - pokles cca o 4 %,
- Krevní průtok - uteroplacentární cirkulace 450 až 650 ml/min
- Vysoká kapacita uteroplacentárních cév
- Syndrom hyperkinetické cirkulace
- Vzestup srdeční frekvence o 10 to 15 bpulsů /min
- Vzestup srdečního výdaje o 30% až 50%
- Vzestup minutového objemu v I. trimestru
- 20% redukce periferní cévní resistance
- Plicní cévní resistance je redukována o jednu třetinu
- Snížení diastolického tlaku
- Nezměněný systolický tlak

Ledviny

- Výrazný vzestup renálního průtoku
- Vzestup glomerulární filtrace – změna clearance některých látek v ledvinách
- Vzestup diurézy
- Vzestup kreatininové clearance o 50 %

Dýchací ústrojí

- Vzestup plicního objemu o 30%
- Respirační alkalóza kompenzuje vzestup bikarbonátového vylučování ledvinami
- Nemění se statické a dynamické ventilační parametry
- Vysoký stav bránice
- 40% redukce expiračního rezervního objemu

Trávicí ústrojí

- Tonus dolního esofagálního sfinkteru je snížený
- Častější výskyt gastroesofagálního refluxu.
- Střevní motilita redukována
- Pomalejší vyprazdňování trávicího ústrojí

- Častý výskyt zácpy
- Vzestup objemu žlučníku a žluči
- Pokles motility žlučníku
- Redukované vyprazdňování žluči po jídle
- Zvýšený výskyt žlučových kamenů

Játra

- Změna exkrece některých hormonů
- Vliv estrogenů - zvýšení produkce specifických vazebných bílkovin (sexuální hormony vázající globulin [SHBG], tyroxin vázající globulin [TBG], kortizol vázající globulin [CBG], angiotenzinogen, fibrinogen)

Endokrinní systém

Hypofýza

Přední lalok hypofýzy se zvětší o 36% - zvětšení je prokazatelné magnetickou rezonancí

- desetinásobný nárůst laktotrofů (jak velikost, tak počet) (vlivem estrogenů),
- výrazná redukce počtu somatotrofů a gonadotrofů,
- nemění se množství kortikotrofů a tyrotrofů .

Prolaktin (PRL)

Syntéza PRL koreluje s nárůstem hladin estrogenů. Průměrná hodnota prolaktinu v séru je 207 ng/ml (rozmezí 350 až 600 ng/ml), na rozdíl od průměrné hodnoty netěhotných žen 10 ng/ml. V amniotické tekutině je hladina 10krát až 10krát vyšší než v séru. U nekojících žen se vrací hladina PRL k normě asi 7 dní po porodu, u kojících žen přetrvávají zvýšené hladiny dlouhodobě a postupně klesají.

Bromokriptin snižuje hladinu PRL v amniotické tekutině, ale snižuje hladinu PRL v séru matky.

Růstový hormon (GH)

- Hladina GH v séru matky se v těhotenství nemění.
- Relaxin, produkovaný žlutým tělískem, a estrogeny stimulují sekreci GH.
- Hypofyzární GH mRNA a sekrece GH klesají v 25. týdnu těhotenství.
- GH je dále produkován placentou (placentární růstový hormon, pGH)
- Rozdílná reakce na zátěžové testy v první a druhé polovině těhotenství

Gonadotropiny

- Placenta produkuje biologicky aktivní hormony uvolňující gonadotropiny (GnRH)
- Produkce hypofyzárních gonadotropinů v těhotenství klesá - dochází k výrazné redukcii sérových hladin LH a FSH již od začátku těhotenství

- Suprese gonadotropinů je důsledek vzestupu hladiny estradiolu a progesteronu v ovariu i placentě – zpětnovazebná reakce
- Hladiny se po porodu vracejí k normě.

Tyrotropin (TSH)

- koncentrace během I. trimestru signifikantně nižší než v následujících trimestrech, maximální biologická tyrotropická aktivita hCG v 10 až 12 týdnu, v časném těhotenství nekorespondují hladiny TSH s volným T4
- hormon uvolňující tyrotropin (TRH) je v normě
- Vzestup hladiny estrogenů vede k vzestupu jaterní syntézy tyroxin vázajícího globulinu (TBG)
- Důsledek vzestupu počtu folikulů s vzestupem koloidu

hCG, progesteron a estrogeny

- hCG je odpovědný za časnou fázi těhotenství a za placentární sekreci progesteronu a estrogenů.
- Progesteron - inhibice kontrakcí dělohy, vývoj muskuloskeletárního systému plodu, příprava pánve pro porod
- Estrogeny – placentární oběh, jaterní syntéza, kardiovaskulární oběh

Inzulínu podobný růstový faktor 1 (IGF-1)

- Hladina IGF-1 se zvyšuje během druhé poloviny těhotenství vlivem placentárního růstového hormonu (pGH) a lidského placentárního laktogenu (hPL)
- Suprese hypofyzární syntézy a sekrece GH je důsledek vysoké hladiny IGF 1

Adrenokortikotropní hormon (ACTH)

- sekrece ACTH placentou
- Sérová hladina ACTH se zvyšuje čtyřikrát během 7. až 10. týdne, vzestup pokračuje trvale do 33. až 37. týdne, v době porodu může být až 15násobná hladina, vrací se k normě 24 hodin po porodu
- v placentě vzniká biologicky aktivní kortikoliberin (CRH)
- Placentární CRH inhibuje sekreci hypofyzárního CRH - je přerušena vazba mezi hladinou CRH a ACTH
- Sekrece glukokortikoidů je stimulována placentárním CRH

Zadní lalok hypofýzy

Arginin-vasopresin (AVP)

- Vzestup tvorby AVP, ale současně vzestup jeho metabolické funkce způsobený přítomností placentární cystein aminopeptidázy (vasopresinázy)
- Sérová hladina je stejná jako u netěhotných
- Pokles osmolarity je extragonadotropním efektem hCG

Oxytocin

- Hladina progresivně roste paralelně s vzestupem estradiolu a progesteronu, maximálně pak ve 3. trimestru
- Vzestup je zodpovědný za dilataci děložního hrdla a distenzi vagíny během porodu
- Stimuluje děložní kontrakce a urychluje vypuzení plodu z dělohy.

Oxytocinové receptory

- Počet děložních oxytocinových receptorů během těhotenství narůstá.
- V těhotenství je až 100krát více oxytocinu vázáno na myometrium.

Štítná žláza

- zvětšuje se o cca 18% jako důsledek tyrotropického efektu hCG
- Vzestup produkce **T4** (kvůli urychlení látkové výměny)
- Vzestup sérového thyroxin vázajícího globulinu (TBG)
- Vzestup vychytávání jodu štítnou žlázou
- Pokles hladiny jodu v krvi v důsledku zvýšení ledvinné jodidové clearance.
- Vzestup celkového T4 a celkového **T3** v séru
- koncentrace volného T4 a volného T3 jsou v mezích normy
- Nesignifikantní změna hladiny thyroxin vázajícího prealbuminu

Příštítná tělíska

- V těhotenství je cca 30 g vápníku přeneseno z matky do plodu
- Koncentrace ionizovaného vápníku aktuálně může být zvýšena, po nastolení rovnováhy celkového vápníku a albuminu bývá zvýšení jen malé.
- Močová exkreční frakce vápníku stoupá v souladu s vzestupem glomerulární filtrace.

Parathormon (PTH) - sérová hladina v těhotenství sice stoupá (intaktní PTH měřený IRMA metodou nevykazuje rozdíl proti netěhotným)

Protein podobný parathormonu (PTHrP) vzrůstá výrazně v těhotenství. Celá řada tkání produkuje tento protein (nejvíce placenta a prsní žlázy), ale příčina jeho zvýšené tvorby je dosud nejasná, snad hraje roli v placentárním transportu kalcia.

D vitamín - sérová hladina 25-hydroxyvitaminu se v těhotenství nemění, naproti tomu sérové koncentrace 1,25-dihydroxyvitamin D a vitamin D vázajícího globulinu vlivem estrogenů výrazně stoupají. Kromě toho biologicky aktivní volná frakce 1,25-dihydroxyvitaminu D rovněž stoupá jako důsledek zvýšené ledvinné 1 α -hydroxylázové aktivity a zvýšené produkce 1,25-dihydroxyvitamin D v placentě. Důsledkem zvýšení hladiny 1,25-dihydroxyvitaminu D je vzestup vstřebávání vápníku ve střevě na dvojnásobek.

Vápník - i přes zvýšené vstřebávání jeho sérová hladina během těhotenství klesá - nejnižší hodnoty jsou ve 28. až 32. týdnu v souladu s poklesem hladiny albuminu a vzestupem objemu cirkulující krve.

Nadledviny

Kůra nadledvin

Kortizol

Důsledkem hyperestrogenemie je vzestup kortizol vázajícího globulinu (CBG) na dvojnásobek. Vzestup hladiny a pokles metabolické clearance kortizolu, zvýšená hladina plazmatického ACTH a zvýšená citlivost kůry nadledvin na působení ACTH vede k vzestupu celkového plazmatického kortizolu v 26. týdnu na dvoj- až čtyřnásobek normální hladiny a této úrovni zůstává až do konce těhotenství. Současně se zvyšuje se i hladina volného kortizolu.

Antiglukokortikoidní působení progesteronu způsobuje, že zvýšená hladina volného kortizolu nevede k hyperkortikalismu.

Mineralokortikoid, **11-deoxykortikosteron (DOC)** vykazuje šesti- až desetinásobný vzestup koncentrace zaviněný estrogény-indukovanou placentární 21-hydroxylázou potřebnou pro syntézu progesteronu.

Androgeny

- Hladiny **androstendionu** a celkového **testosteronu** jsou zvýšeny, hormony jsou ovariálního i nadledivového původu
- Hladiny **volného testosteronu** jsou normální nebo snižené do 28. týdne vlivem zvýšené jaterní tvorby sexuální hormonů vázajícího globulinu (**SHBG**), navozené estrogény.
- Adrenální produkce **DHEA** a **DHEAS** je dvojnásobná
- Sérová koncentrace DHEAS je vlivem vysoké placentární clearance redukována na jednu třetinu nebo polovinu hladin netěhotných žen.
- působením 16-hydroxylace v placentě vzniká 16-hydroxydehydroepiandrosteron sulfát pro syntézu estrogenu

Dřeň nadledvin

Funkce dřeně nadledvin je v těhotenství normální. Plazmatické hladiny epinefrinů a norepinefrinů a odpad katecholaminů do moči za 24-hodin jsou shodné s netěhotnými

System renin-aldosteron-angiotenzin (RAA)

- **Angiotenzinogen** je zvýšen v důsledku estrogenního působení na játra – vzestup tvorby aldosteronu (10 x zvýšena sérová hladina aldosteronu od poloviny těhotenství až do porodu).
- **Renin** je zvýšen jako důsledek změn průtoku krve ledvinami

- **Angiotensin II** zvýšen 8-10 x, má minimální vasokonstrikční efekt
- Vzestup **aldosteronu** nevede k změnám v sérových hladinách sodíku a draslíku ani k vzestupu tymidinkinázy (hyperaldosteronismus). Je tomu tak proto, že vysoká hladina progesteronu je schopna jej rychle odstranit z ledvinných receptorů.

Pankreas

- Hyperplázie a hypertrofiie β buněk v Langerhansových ostrůvcích je důsledkem stimulace estrogenu a progesteronu. Během časného těhotenství je potřeba glukózy pro plod zajištěna difuzí přes placentu. Proto bývají časté ranní hypoglykémie matky.
- Bazální inzulínová hladina je normální. Poločas inzulínu není v těhotenství změněn.
- Hypersekrece inzulínu bývá v závislosti na příjmu potravy a na existenci zvýšených hladin antagonistů inzulínu. Ke vzniku inzulinresistence může docházet především v druhé polovině těhotenství v důsledku vzestupu hPL a glukokortikoidů.
- Zvýšená produkce glukagonu vede k zvětšené tvorbě a ukládání glykogenu a poklesu jaterní tvorby glukózy.

Placenta jako endokrinní orgán

Placenta je hlavním endokrinním orgánem v těhotenství, produkuje analoga hypotalamických a hypofyzárních hormonů - růstové faktory, peptidy a další látky (Tabulka 12).

Tabulka 12. Hormony produkované placentou

<p>Steroidní hormony</p> <p>Estrogeny - Estron, Estradiol, Estriol</p> <p>Progesteron</p> <p>Proteinové a peptidové hormony</p> <p>Aktivin</p> <p>Adrenomedullin</p> <p>Kalcitonin</p> <p>Choriový gonadotropin (hCG)</p> <p>Somatomammotropin</p> <p>Tyrotropin</p> <p>Follistatin</p> <p>Placental growth hormone (pGH)</p> <p>Inhibin</p> <p>Leptin</p> <p>Oxytocin</p> <p>Placentální prolaktin</p> <p>Proliferin</p> <p>Proopiomelanokortin:</p>	<p>Neuropeptidy</p> <p>Hypotalamické - CRH, GHRH, GnRH, TRH</p> <p>Ghrelin</p> <p>Neuropeptid Y</p> <p>Somatostatin</p> <p>PrRP</p> <p>Růstové faktory</p> <p>Kolonie stimulující faktory (CSF)</p> <p>Epidfermální růstový faktor (EGF)</p> <p>Endothelin I</p> <p>Erythropoietin</p> <p>Fibroblastový růstový faktor (FGF)</p> <p>Hepatocytový růstový faktor (HGF),</p> <p>Placentární růstový faktor (pGF)</p> <p>IGF-1, IGF-2, proteiny vázající IGF (IGF-BP 1-6)</p> <p>Interleukiny</p> <p>Nervový růstový faktor (NGF)</p> <p>Onkomodulin</p>
---	---

ACTH β -Endorfin α /MSH α / β -Lipotropin PTH-related protein Relaxin Angiotensinogen Renin SHBG Urokortin	PDGF Transformující růstový faktor α a β (TGF- α TGF- β) Faktor nádorové nekrózy α (TNF α) Vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF)
---	---

Steroidogeneze

Rozvoj a množství prokukovaných estrogenů a progesteronu v placentě je limitován vývojem placenty a uteroplacentárním oběhem, protože syntéza je z velké části realizována z prekurzorů vzniklých v těle matky nebo plodu. Na rozdíl od netěhotné ženy jsou hladiny těchto steroidů trvale vysoké.

Progesteron

V časně fázi těhotenství (do 8 týdne) je produkován žlutých tělískem. Je důležitý pro implantaci vajíčka. Od 8. týdne se jeho produkce dělí mezi žluté tělísko a placentu a po 12. týdnu jeho produkci přebírá naplno placenta. Progesteron je důležitým substrátem pro syntézu glukokortikoidů a mineralokortikoidů plodu.

Estrogeny

Prekurzorem pro syntézu estrogenů v placentě i u plodu je DHEAS, proto má tak vysoké hodnoty, jak bylo zmíněno výše. Tyto hormony mají na svědomí růst dělohy, aby se děloha dokázala přizpůsobit požadavkům rostoucího plodu, dále způsobují zvětšování prsů a podporují růst mléčných žláz. Jejich produkce také způsobují uvolnění některých vazů a kloubů.

Peptidické hormony

Lidský choriogonadotropin (hCG)

S maximem kolem 60. dne těhotenství je placentou produkován proteohormon lidský choriogonadotropin (hCG). U matky je jeho plazmatická koncentrace 500krát vyšší než u plodu. Nárůst i pokles hladin hCG má matematicky definovatelné závislosti a dynamické sledování hCG lze využít pro diagnostiku řady těhotenských komplikací, např. mimoděložního těhotenství, hrozícího potratu či úmrtí plodu, a samozřejmě při screeningu vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací.

Lidský placentární laktogen (hPL) - vedle laktogenního efektu zvyšuje luteotropní efekt hCG a somatotropní efekt růstového hormonu (GH)

Placentární růstový hormon (pGH)

Lidský choriosomatotropin (HCS) je secernován převážně do mateřské cirkulace. Zvyšuje hladiny volných kyselin a má diabetogenní účinek.

Růstové faktory,

Vyjmenované růstové faktory, interleukiny a další faktory jmenované v tabulce hrají především významnou roli v regulaci syntézy placentárních hormonů a uplatňují se i v regulaci endokrinního systému plodu.

2.1.2 Vitamín D a těhotenství

Radka Fuchsová

Téma deficitu vitamínu D u velké části populace zasahuje dnes do většiny oborů medicíny. V případě gynekologie to je především otázka vlivu deficitu vitamínu D na intrauterinní vývoj plodu.

Intrauterinní efekt matky s deficitem vitamínu D

Kromě vlivu na kosti a novorozeneckou hypokalcémii ukazuje evidence také na vliv na růst v dětství a dospívání. Výsledky studií sledující vliv na kostní minerální densitu u dětí narozených v závislosti na ročním období mají rozporuplné výsledky. Nicméně se předpokládá, že nízké hladiny 25-OH vitamínu D v pokročilém těhotenství (nikoli v 1. trimestru) jsou spojeny s pomalejším růstem dlouhých kostí, lehce zkrácenou dobou gestace a menší svalovou hmotou.

V řadě studií byl také prokázán vztah statuem vitamínu D matky během těhotenství a porodní váhou. Matkám s nízkou hladinou vitamínu D během těhotenství se rodí děti v průměru o 200g nižší porodní váhou.

Adekvátní status vitamínu D a homeostáza kalcia během těhotenství může mít zásadní vliv na vývoj osteoblastů, střeva, T a B lymfocytů, β buněk pankreatu, mozku, srdce, kůže, gonád a mononukleárů, a tedy dopad deficiencie je nejen na skelet.

Je známo, že právě nedostatek vitamínu D v kritickém období těhotenství (od gestace až po 2. rok života) má zásadní vliv na stavbu imunitního systému, což se odráží ve vyšším riziku rozvoje např. astmatu, diabetu mellitu 1. typu, a dalších autoimunitních onemocnění.

Strategie suplementace těhotných VD

Přestože je jasné, že existují zvýšené nároky na příjem vitamínu D u těhotných, aby byla zajištěna adekvátní dodávka 25-OH vitamínu D pro potřeby plodu, neexistuje zatím jednoznačný konsensus na optimální hladinu 25-OH vitamínu D v těhotenství, nebo na dávky vitamínu D potřebné k zajištění adekvátního vývoje plodu. Bohužel je ale známo, že řada přípravků určených pro těhotné ženy obsahující vitaminy a minerály má pravděpodobně nedostatečný obsah vitamínu D. V této oblasti běží rozsáhlý výzkum, který by měl

determinovat vhodnou dávku suplementace vitamínu D během jednotlivých období těhotenství. Nicméně doporučení pro suplementaci těhotných, které jsou ohroženy nedostatkem vitamínu D (komunity s nedostatečnou expozicí slunci) je následující: denní příjem alespoň 2000 IU vitamínu D.

Vybraná literatura

1. Abdelmannan D, Aron DC. Adrenal disorders in pregnancy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2011 Dec;40(4):779-94.
2. De Bonis M, Torricelli M, Severi FM et al. Neuroendocrine aspects of placenta and pregnancy. *Gynecol Endocrinol.* 2012 Mar;28 Suppl 1:22-6.
3. Feldt-Rasmussen U, Mathiesen ER. Endocrine disorders in pregnancy: physiological and hormonal aspects of pregnancy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Dec;25(6):875-84.
4. Kovacs CS. Vitamin D in pregnancy and lactation: maternal, fetal, and neonatal outcomes from human and animal studies. *Am J Clin Nutr.* 2008 Aug;88(2):520S-528S.

2.2 Poruchy štítné žlázy v těhotenství

Václav Zamrazil

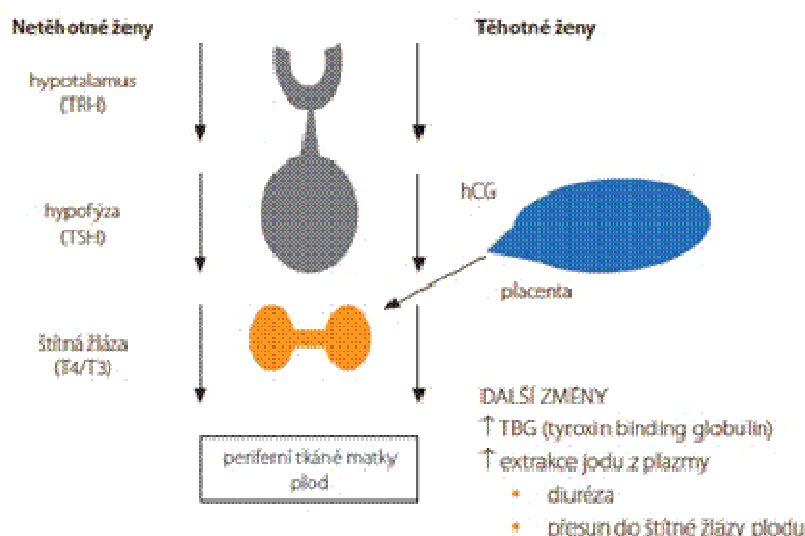
Těhotenství je fyziologický stav, ale klade zvýšené nároky na organismus matky po mnoha stránkách. Pro udržení těhotenství, vývoj plodu a průběh porodu má v rámci regulačních systémů důležitou úlohu štítná žláza a hormony štítné žlázy (tyreoidální hormony). Zdravá štítná žláza s neporušenou funkcí má dostatečnou rezervu pro splnění stupňujících se nároků během těhotenství a porodu za předpokladu, že je zajištěn dostatečný přívod jodu. U poměrně značné části populace se však vyskytují různé poruchy ve funkci štítné žlázy, která mnohdy nemá dostatečné zásoby jodu pro zajištění zvýšené tvorby tyreoidálních hormonů.

Kromě zásobení mateřského organismu plní štítná žláza matky další zásadně důležitý úkol: zajišťuje dostatečné množství tyreoidálních hormonů pro vyvíjející se plod. V prvním trimestru je plod prakticky zcela závislý na přívodu tyreoidálních hormonů z organismu matky transplacentární cestou. V dalším průběhu těhotenství (zhruba od 12. – 14. týdne) začíná produkce tyreoidálních hormonů i ve štítné žláze vyvíjejícího se plodu – ovšem za předpokladu, že má dostatečný přívod jodu od matky.

2.2.1 Regulace funkce štítné žlázy v těhotenství

U netěhotných: hlavním podnětem pro tvorbu a sekreci hormonů štítné žlázy – [tyroxinu \(T4\)](#) a [trijodtyroninu \(T3\)](#) je [tyreotropin \(TSH\)](#), hormon produkovaný adenohypofýzou. Ten stimuluje aktivní transport jódu z krve do folikulárních buněk, jeho zabudování do thyreoglobulinu i vlastní sekreci hormonů. Tvorba TSH je pak řízena tyreotropin stimulujícím hormonem (TRH), který se tvoří v hypotalamu a jehož sekrece je tlumena vysokými hladinami T4 a T3 v krvi.

U těhotných je důležitá stimulační role choriogonadotropinu ([hCG](#)) produkovaného placentou.



TRH – tyreotropin releasing hormone, TSH – tyreotropin, hCG – lidský choriový gonadotropin
 T4, T3 – tyreoidální hormony (tyroxin, trijodtyronin)

Obrázek 11. Změny regulace funkce štítné žlázy v těhotenství. (převzato ze Zamrazil 2010).

Funkce štítné žlázy v těhotenství je ovlivněna za fyziologických podmínek zejména třemi faktory:

1. stoupá potřeba tyreoidálních hormonů:

- zvýšuje se bazální metabolismus mateřského organismu (v průměru o 15-20 %).
- tyroxin (T4) (hlavní hormon štítné žlázy) přechází transplacentární cestou do oběhu plodu
- mohou stoupat ztráty jodu močí (jodurie) při zvýšené glomerulární filtraci

2. mění se regulace tyreoidální funkce (Obrázek 11):

- Vlivem přítomnosti placenty. Placenta se do regulace zapojuje tvorbou placentárních hormonů, z nichž z hlediska regulace funkce štítné žlázy je nejdůležitější hCG. Tento hormon působí stimulačně na funkci štítné žlázy obdobně jako tyrotropin (TSH). Důsledkem tohoto zásahu je „rozvolnění“ vzájemného vztahu mezi hodnotami TSH a fT4. Za normálních okolností je zpětnou vazbou na úrovni štítná žláza-hypofýza-hypotalamus regulována tyreoidální funkce především hladinou TSH. Lidský placentární laktogen (hPL) stimuluje funkci štítné žlázy nezávisle na TSH, takže hladina TSH zejména v první trimestru klesá, takže je méně spolehlivým ukazatelem saturace organismu tyreoidálními hormony. Navíc placenta produkuje široké spektrum steroidních hormonů.
- zvýšené hodnoty estrogenů stimulují v játrech tvorbu hlavní přenosové bílkoviny pro tyreoidální hormony –TBG (tyroxin vázající globulin). To zvyšuje hladinu vázaného tyroxinu, který je sice biologicky neúčinný, ale tvoří převážnou část v diagnostické praxi stanovovaného celkového tyroxinu. Proto jsou hodnoty celkového tyroxinu (TT4) zvýšené a tudíž pro diagnózu poruch funkce štítné žlázy méně spolehlivé. Tudíž jednoznačně preferujeme vyšetřování volné frakce tyroxinu (fT4), která je tímto mechanismem méně ovlivněna. Placenta dále může svým systémem deiodáz měnit poměr tyroxinu, trijodtyroninu a reverzního trijodtyroninu (přehled viz tabulka 3).
- stoupá potřeba jodu. Za normálních okolností se udává dolní hranice dostatečného přívodu jodu u dospělé osoby 150 µg/den. V těhotenství (a také v období kojení) stoupá tato hranice na 250 µg/den. Toto množství běžný průměrný přísun jodu v naší populaci již u části těhotných nezajišťuje (viz tabulka 13).

3. mění se aktivita imunitního systému (zásadní význam u autoimunitních tyreopatií).

Tabulka 13. Saturace jodem v graviditě

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• potřeba jodu stoupá ze 150 µg /den na 250 µg /den (dolní hranice) - saturace hodnocena pomocí jodurie (nad 100-150 µg /l)• i při dosažení dostatečné saturace jodem dle kritérií WHO/ICCIDD (dosažených v ČR v r. 2004) je saturace v těhotenství nedostatečná u 15-20 % žen (údaje z USA, u nás zatím nejsou dostupná)• i mírné snížení saturace (jodopenie pod 100 µg /den) nepříznivě ovlivňuje vývoj plodu, hlavně CNS |
|--|

Na rozdíl od zdravé plně funkčně výkonné štítné žlázy dochází při jejím oslabení ke změnám, které mohou mít závažné důsledky pro průběh těhotenství, vývoj plodu, eventuelně i průběh porodu. V našich podmínkách je nejčastější příčinou poruch štítné žlázy autoimunitní proces, může se u nás již spíše výjimečně uplatnit nedostatek jodu, vrozené enzymové poruchy, lékové vlivy, zevní ozáření atd.

2.2.2 Následky porušené funkce štítné žlázy v těhotenství

Jsou komplexní a vedou k poruchám

1. v mateřském organizmu

-riziko růstu strumy. Velikost štítné žlázy v těhotenství již fyziologicky mírně stoupá (zvětšuje se složka buněčná i prokrvení). Při nedostatku jodu je růst podstatně výraznější a často dochází k tvorbě uzlů (nodulizaci). Již přítomná struma se rovněž zvětšuje především v závislosti na přísunu jodu.

-riziko porušené funkce: již přítomná tyreotoxikóza (hypertyreóza) se obvykle zklidňuje. Je to dáno vzestupem vazebních proteinů (tyroxin vázajícího globulinu [TBG]) a u tyreotoxikózy autoimunitního původu (těch je v produktivním věku ženy převaha) také snížením autoimunitní aktivity.

Opačný trend je patrný u hypothyreózy. Při již diagnostikové formě je nutno v těhotenství zvýšit dávku tyroxinu o $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$. k dosažení plné eutyreózy. Subklinické formy hypothyreózy (normální hladina fT4 a zvýšená hladina TSH) přecházejí do klinicky manifestní formy. Proto i subklinické hypothyreózy vyžadují bezprostřední nasazení tyroxinu.

U chronické autoimunitní tyreoiditidy dochází obvykle k poklesu tyreoidální funkce i tehdy, když byla před otěhotněním normální.

2. u plodu

- nedostatek tyreoidálních hormonů (ať je vyvolán nedostatkem v mateřském organizmu, nebo nedostatečnou funkcí štítné žlázy plodu – nejčastěji důsledek nedostatku jodu) vedou k závažným poruchám vývoje plodu. Jsou patrné ze zpoždění celkového tempa vývoje, nápadné zpomalení vývoje skeletu, ale zásadně důležitá je porucha vývoje mozku, která se týká jak neuronů, tak podpůrných gliových struktur. Tyto změny nejsou v pozdějších fázích vývoje reparable tzn. jedince, který se závažnou poruchou vývoje mozku vyvolanou nedostatkem tyreoidálních hormonů narodil, nelze již léčbou po porodu vyléčit, zůstává trvale defektní. Nejtěžší formy poruch z nedostatku jodu, které se označují jako endemický kretenismus, se u nás již nevyskytují. Novější nálezy svědčí pro to, že i mírný nedostatek tyreoidálních hormonů během vývoje vede k trvalým poruchám činnosti CNS. Prokazatelný je zejména pokles inteligence (snížení populárního IQ o 7-13 bodů) a vznik syndromu hyperaktivního nezvládnutelného dítěte.

3. průběh gravidity a porodu

-porušená funkce štítné žlázy může snižovat fertilitu, takže k těhotenství vůbec nedojde. V graviditě zvyšuje riziko potratů, porušeného vývoje placenty a předčasného porodu. Vliv na častější výskyt vrozených vad plodu není výrazný, týká se hlavně poruch vývoje zažívacího systému (atezie). Některé studie svědčí pro zvýšené riziko porodní mortality plodu a následné morbidity kojenice. (Tyto faktory shrnuje Tabulka 14).

Tabulka 14. Následky změn tyreoidální funkce

1) v mateřském organizmu

- riziko růstu strumy
- riziko manifestace subklinických poruch funkce

2) u plodu

- riziko poruch vývoje plodu, především CNS (od endemického kretenizmu po vznik syndromu hyperaktivního dítěte)

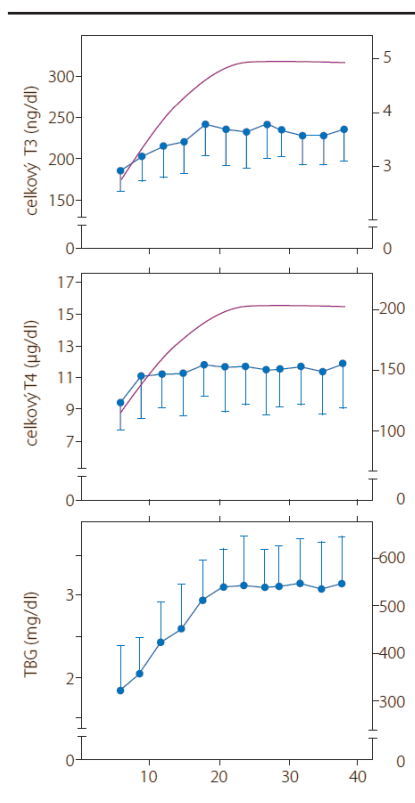
3) pro průběh gravidity a porodu

- riziko abortu, předčasný porod, vývojové vady, poporodní morbidita a mortalita

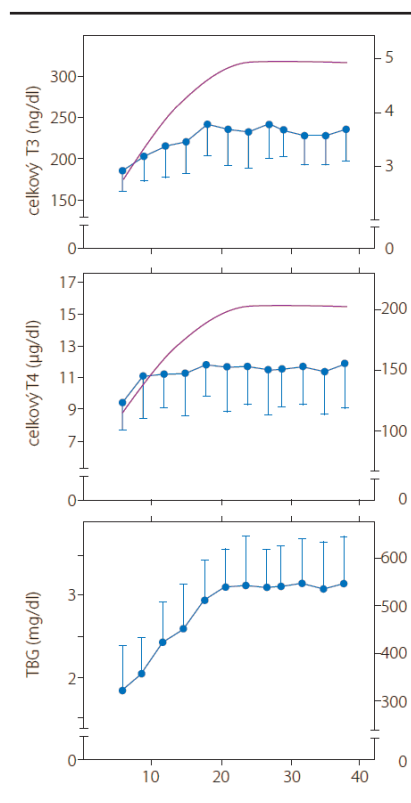
2.2.3 Hodnocení funkce štítné žlázy v graviditě

Změny hladin hormonů štítné žlázy a TSH jsou nesporné, jejich význam je hodnocen různě. Významný odborník v této problematice prof. Glinoeer uvádí výsledky sledování na početném souboru těhotných žen z Belgie (oblast s mírným deficitem jodu) následovně:

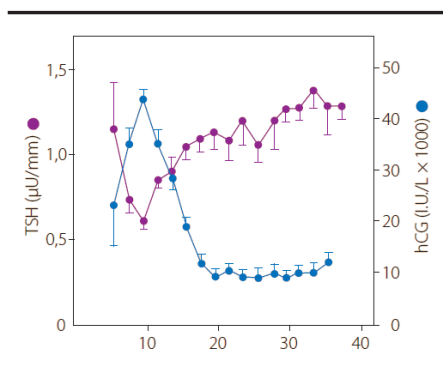
- hladina volných tyreoidálních hormonů a saturace TBG po iniciálním vzestupu během těhotenství postupně klesají (Obrázek 12).
- hodnoty celkového tyroxinu (T4) a celkového trijodtyroninu (T3) se po iniciálním vzestupu nemění, vzestup TBG trvá až do 20. týdne, pak je hladina již stabilní (Obrázek 13).
- vztah mezi změnami TSH a hCG je reciproční. V iniciální fázi těhotenství prudce stoupá hodnota hCG a dochází k supresi hodnot TSH. Později (od asi 10. týdne) hladina hCG klesá a hodnoty TSH se vracejí k normálním (Obrázek 14).



Obrázek 12. Změny celkových hormonů (T4, T3) a saturace TBG během gravidity. Časový průběh gravidity uveden na ose x.



Obrázek 13. Změny volných frakcí tyreoidálních hormonů a TBG v průběhu gravidity.



Obrázek 14. Změny hodnot TSH a hCG v průběhu gravidity.

2.2.4 Laboratorní diagnostika poruch štítné žlázy

Obecné principy diagnostiky se pochopitelně neliší od běžné populace. Pokud vycházíme z klinického obrazu porušené funkce štítné žlázy, ten je i v těhotenství základním přístupem a symptomatologie i objektivní nálezy jsou stejné.

V laboratorní diagnostice je však nutno přihlížet k určitým odlišnostem

-zvýšená hladina TBG (tyroxin vázajícího globulinu) vlivem zvýšené produkce estrogenů zvyšuje hodnoty celkových tyreoidálních hormonů (celkový tyroxin a méně i celkový trijodtyronin). K tomuto zvýšení dochází v prvním trimestru a v dalším průběhu těhotenství se hodnoty již výrazně nemění. Hodnoty volných hormonů v průběhu těhotenství spíše postupně klesají (viz Obrázek 12).

-výrazné jsou změny tyreotropinu (TSH) a placentárního hCG. Ty jsou v podstatě reciproční. Zvýšená produkce hCG v prvním trimestru je spojena se supresí hodnot TSH. V pozdějším průběhu gravidity se hodnoty TSH postupně zvyšují s poklesem hodnot hCG (viz Obrázek 13).

Z uvedeného vyplývá, že rozmezí referenčních hodnot tyreoidálních hormonů i TSH se v těhotenství liší. Dosud neexistuje plná shoda v tom, jaké jsou „normy“ fT4, fT3 a TSH v různých fázích těhotenství. Obecně je nutno počítat s tím, že hodnota TSH v prvním trimestru je nižší než referenční hodnota pro běžnou populaci. Vzhledem k tomu, že referenční rozmezí TSH stanoveného různými firemními soupravami se liší, je stanovení dolní hranice TSH předmětem diskuzí.

2.2.5 Hodnocení aktivity autoimunitního procesu u tyreopatií

V naší populaci je většina tyreopatií které postihují gravidní ženy autoimunitního původu (odhaduje se, že postihují 5-7% těhotných žen). Je proto nutné věnovat vlivu gravidity na aktivitu tyreoidální autoimunity zvýšenou pozornost.

Gravidita je obecně spojena s určitým stupněm imunotolerance. Klinickými důsledky této skutečnosti jsou

- pokles klinické aktivity Graves-Basedowovy tyreotoxikozy

To obvykle umožňuje snížit dávku tyreostatik u žen s léčenou tyreotoxikozou. Pokud je diagnostikována až v těhotenství, nasazení tyreostatik vede obvykle k rychlému zklidnění procesu při poklesu protilátek stimulujících TSH receptory (TRAK). Přetrvávající vysoká hodnota TRAK signalizuje riziko novorozenecké tyreotoxikozy. V souvislosti s léčbou tyreostatiky je nutno se zmínit o otázce jejich teratogenního vlivu. Ve skutečnosti při použití běžných dávek propylthiouracylu nebyl teratogenní vliv prokázán, tyreostatika imidazolového typu (např. Thyrozol) mohou vést k poruchám kštic. Vzhledem k tomu se doporučuje v graviditě (přinejmenším v 1. trimestru) podávat Propycil. Jinak se ovšem dlouhodobá léčba Propycilem považuje za riskantní vzhledem k jeho hepatotoxicitě.

Po porodu obvykle aktivita tyreotoxikozy stoupá, takže je nutno dávku tyreostatik zvýšit. Proto někteří autoři doporučují provést na přechodu druhého a třetího trimestru gravidity totální tyreoidektomii. Zárok neovlivňuje nepříznivě průběh těhotenství, vyžaduje však pečlivé sledování hladiny volného tyroxinu a okamžité nasazení substituční léčba tak, aby hladina fT4 neklesla pod normální hodnoty.

- změny autoimunitní aktivity a tyreoidální funkce u autoimunitní tyreoidity. Rovněž zde dochází k poklesu autoimunitní aktivity, ale současně s tím i k poklesu produkce tyreoidálních hormonů. Pokud podáváme již před těhotenstvím u ženy s autoimunitní tyreoiditou substituční léčbu tyroxinem, je nutno tuto dávku zvyšovat výrazněji než při hypotyreoze jiného původu, kde se obvykle doporučuje zvýšení o 1/4-1/3 původní dávky. Dostatečné zvýšení u autoimunitní tyreoidity se uvádí o 1/2 původní dávky. Konkrétní hodnoty jsou individuální a je proto nutno sledovat hodnoty fT4 a TSH v kratších časových intervalech.

Gravidita obvykle vede k poklesu funkce při autoimunitní tyreoiditě i tam, kde byla původně normální. Proto je nutno saturaci sledovat a včas nasadit tyroxin. Kromě toho existují názory, že podávání malých dávek tyroxinu přispívá k poklesu protilátek proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) což snižuje riziko vzniku poporodní tyreoidity. Význam změn protilátek v těhotenství je shrnutý v tabulce 16.

Nezbytné je okamžité zahájení substituce u subklinické hypotyreozy (vyšší TSH při normálním fT4).

Tabulka 15. Aktivita autoimunitních tyreopatií v graviditě

1) autoimunitní tyreopatie se vyskytují u 5-7 % gravidních žen v ČR
2) gravidita je spojena se zvýšenou imunitotolerancí
3) klinickým důsledkem je
- pokles aktivity autoimunitních tyreopatií, hlavně Graves-Basedowovy tyreotoxikozy
- při zvýšené potřebě T4 se klinicky manifestují dosud latentní (subklinické) hypotyreozy
4) po porodu často dochází k aktivaci autoimunity (relaps či aktualizace Graves-Basedowovy tyreotoxikozy, manifestace autoimunitních tyreoidit)

Tabulka 16. Hodnocení aktivity autoimunitních tyreopatií v graviditě

1) hodnoty anti-TPO (TPO - tyreoidální peroxidáza) a anti-Tg (Tg – tyreoglobulin) a protilátek proti TSH receptoru (TRAK) v graviditě klesají
2) po porodu stoupají – často před klinickou manifestací choroby
3) pozitivita antiTPO protilátek v graviditě
- je spojena s větším rizikem předčasného porodu
- je výrazným prognostickým markerem vzniku poporodní tyreoidity
4) pozitivita protilátek proti TSH receptoru (TRAK) signalizuje riziko novorozenecké tyreotoxikozy

2.2.6 Saturace jodem v těhotenství

Jod je nezbytnou součástí hormonů štítné žlázy a do organismu se dostává s potravou (eventuelně vodou). K zajištění normální funkce štítné žlázy je nutný denní příjem jodu

nejméně 150 µg. Ve štítné žláze existují rezervy jodu na několikátýdenní činnost, takže krátkodobý pokles příjmu se tím kompenzuje. Těhotenství je spojeno s nutností zvýšení denního přívodu jodu na nejméně 250 µg /den. Zatímco současný přívod jodu u nás kryje běžnou potřebu jodu, v řadě případů nestačí zajistit 250 µg jodu/den nezbytných v těhotenství (a také při kojení). Takže situace v ČR je podobná jako v řadě ostatních zemí s kompenzovaným jodovým deficitem (např. USA), tzn. že odhadem 10-20% gravidních žen nemá u nás optimální zásobení jodem. To, jak již bylo uvedeno, nepříznivě ovlivňuje štítnou žlázu matky, průběh těhotenství a porodu a vývoj plodu, zejména jeho nervového systému, takže se rodí novorozenec, který bude mít trvale celoživotně o něco nižší inteligenci, než by mohl mít při optimální saturaci jodem během nitroděložního vývoje (pokles IQ o 7-13 bodů) a může vzniknout drobná porucha činnosti CNS, která vede k syndromu hyperaktivního (nevládnutelného) dítěte, což je spojeno s výchovnými problémy.

Proto Česká endokrinologická společnost a Česká pediatriká společnost JEP doporučuje podávání 100 µg jodu ve formě jodových tablet (Jodid). Doporučení amerických expertů je ještě vyšší – 150 µg /den navíc. Tato dávka je obvykle obsažena v běžných polyminerálních směsích podávaných v graviditě.

2.2.7 Otázka screeningu tyreopatií v graviditě

Patří v současné době k nejvíce diskutovaným otázkám klinické tyreoidologie i prenatální péče. Důvod screeningu vychází z těchto předpokladů:

- tyreopatie v graviditě jsou poměrně častým onemocněním (u 5-7% gravidních žen).
- mají nepříznivý účinek na matku, průběh těhotenství i plod.
- jejich diagnostika je propracovaná a dostupná, jejich léčba je levná a účinná. K diagnóze postačí vyšetření TSH, FT4 a protilátek proti TPO.

Screening má význam pouze tehdy, je-li posouzení stavu štítné žlázy dostupné co nejdříve, nejpozději do konce prvního trimestru. Optimální by bylo zahájit léčbu ještě před těhotenstvím, alespoň ale v prvním trimestru těhotenství.

Celoplošný screening se u řady chorob neosvědčil buď z důvodů odborných (malá senzitivita, obtíže při organizaci) nebo finančních (zvýšené náklady). Proto řada expertů doporučuje i v případě screeningu tyreopatií v graviditě jeho provedení pouze u rizikových skupin. Poslední seznam rizikových faktorů vypracovali experti v roce 2007 (viz tab. 7). Bohužel tento postup podle současných zkušeností nezjistí 30-50% tyreopatií v těhotenství. Proto jiní autoři doporučují celoplošný screening. Ten je od roku 2010 povinný ve Slovenské republice, u nás bylo provedeno několik pilotních studií, které potvrzují proveditelnost celoplošného

screeningu za předpokladu úzké spolupráce porodníků, vybraných biochemických laboratoří a endokrinologů. Zda se podaří celoplošný screening zavést i u nás je stále nejisté.

Závěry

- 1) gravidita je spojena se zvýšenými nároky na štítnou žlázu**
- 2) gravidita mění metabolismus tyreoidálních hormonů a jodu u matky**
- 3) porucha tyreoidální funkce nepříznivě ovlivňuje průběh těhotenství, mateřský organismus a zejména vývoj plodu**
- 4) gravidita zvyšuje potřebu jodu ze 150 na 250 µg/den**
- 5) gravidita mění diagnostiku, klinický průběh a léčbu většiny tyreopatií**
- 6) včasná diagnóza a léčba poruchy zabrání nepříznivým důsledkům**
- 7) screening tyreopatií v graviditě je jedinou účinnou cestou prevence**

Vybraná literatura

1. Abalovich M, et al. Clinical practice guideline management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum and Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol Metab* 2007; 91(S2): 1–47.
2. Fischer DA. Fetal neonatal endocrinology. In DeGroot LJ, Jameson JL, Elsevier, Philadelphia, 2006.
3. Glinoe D, et al. *Journal of clinical endocrinology and metabolism* 1990; 71: 276.
4. Kaňová N. Onemocnění štítné žlázy a příštích tělísek v graviditě. In: Stárka L, a kol. *Pokroky v endokrinologii*. Maxdorf, Praha, 2007.
5. Límanová Z. Onemocnění štítné žlázy v graviditě. In Límanová Z. *Štítná žláza*. Galén Praha, 2006.
6. Bílek R, Čeřovská J. Jod a tyreoidální hormony. *Vnitřní Lék.* 2006; 52: 881–890.

2.3 Prevence vývojových a metabolických vad

2.3.1 Prenatální screening Downova syndromu a vrozených vývojových vad plodu (VVV)

Ivan Šubrt

Vrozené vývojové vady (VVV) jsou odchylky od normálního prenatálního vývoje lidského jedince přesahující běžnou míru variability. Vznikají působením genetických faktorů a/nebo faktorů vnějšího prostředí. Frekvence VVV dosahuje asi 3 – 5 % novorozenců.

Vrozené chromosomální aberace (VCA) jsou typem genetické mutace postihující počet či polohu chromosomálních sad, chromosomů nebo jejich částí. Frekvence VCA dosahuje asi 0,5 % novorozenců. Nevyvážené chromosomální aberace jsou charakterizovány ziskem či ztrátou genetického materiálu a vedou k závažným poruchám fenotypu. Nejčastější VCA u člověka je Downův syndrom - trisomie chromosomu 21. Celková populační frekvence DS dosahuje asi 1/600 – 1/1000 novorozenců. Riziko porodu dítěte s DS pozitivně koreluje s věkem těhotné

Prenatální péče o těhotnou ženu se řídí doporučeným postupem „Zásady dispenzární prenatální péče ve fyziologickém těhotenství“ České gynekologické a porodnické společnosti ČLS JEP. Každá těhotná má právo, aby jí jako součást prenatální péče byly nabídnuty i některé screeningové testy včetně screeningu Downova syndromu, některých dalších vrozených chromosomálních aberací a vrozených vývojových vad plodu.

Systémy prenatálního screeningu Downova syndromu a VVV plodu jsou modelovým příkladem mezioborové spolupráce. Na úspěšném provádění se podílejí registrující gynekologové, pracovníci biochemických či imunodiagnostických laboratoří, specialisté pro ultrazvukovou diagnostiku a kliničtí genetici.

Definice screeningu

Screeningový test

V medicíně se screeningem rozumí strategie vyhledávání jedinců s určitou poruchou, kteří dosud nevykazují žádné příznaky, ve screenované populaci. Screeningový test je obvykle relativně jednoduchý a nenákladný a jeho cílem **není stanovit diagnosu**. Jedincům pozitivním ve screeningovém testu jsou následně nabízeny diagnostické testy nebo procedury. Screeningové testy jsou ve srovnání s diagnostickými ze své podstaty zatíženy vyšší falešnou pozitivitou i negativitou a mohou vést k mylným diagnosám či naopak falešnému uklidnění testované osoby. Z tohoto důvodu je třeba, aby zvláště u poruch s nízkou incidencí

dosahovaly kromě vysoké senzitivity (detection rate; DR) i přijatelně vysoké specifity. Obecná pravidla medicínského screeningu byla publikována Světovou zdravotnickou organizací (WHO) v roce 1968.

Prenatálním screeningem se rozumí testování rizika přítomnosti poruchy u plodu v období nitroděložního vývoje. Prenatální screening je obvykle zaměřen na detekci Downova syndromu, dalších vrozených chromosomálních aberací, vrozených vývojových vad plodu (jako jsou poruchy uzávěru neurální trubice, vrozené vady srdce, orofaciální rozštěpy), případně geneticky podmíněné choroby jako Tay-Sachsova choroba, srpkovitá anemie, thalassemie, cystická fibrosa nebo syndrom fragilního chromosomu X (výběrově podle screenované populace).

Screening pozitivním těhotným ženám z cílové populace může být potom nabídnut prenatální diagnostický test (invazivní prenatální vyšetření), který by při nasazení v celé populaci přinášel nepříjemný poměr *risk-benefit*. Standardním diagnostickým testem pro vrozené chromosomální aberace včetně Downova syndromu je karyotypizace fetálních buněk získaných amniocentesou (od 15. týdne gravidity), případně odběrem choriových klků (10. - 13. Týden gravidity). Karyotypizace může být doplněna některou z rychlých metod - zejména kvantitativní fluorescenční PCR (QF-PCR, „AmnioPCR“), případně fluorescenční in situ hybridizací (FISH). Pro morfologické vrozené vývojové vady je diagnostickou metodou ultrazvukové vyšetření plodu (doplněné případně dalšími zobrazovacími metodami - MRI). Diagnostika geneticky podmíněných onemocnění plodu je dle etiologie poruchy a charakteru patologického fenotypu založena na molekulárně genetických, biochemických a zobrazovacích metodách.

Prenatální screening je druhem genetického screeningu:

Etické otázky prenatálního screeningu

Prenatální screening (a navazující související výkony prenatální diagnostiky) mají v rámci tzv. genetické prevence tři cíle:

- umožnit včasnou léčbu poruchy před porodem (fetální medicína) či bezprostředně po porodu
- poskytnout těhotné možnost rozhodnout se pro ukončení gravidity
- poskytnout rodičům možnost připravit se psychologicky, sociálně, ekonomicky i z hlediska poskytování zdravotní péče na porod dítěte s vrozenou poruchou či na možnost odúmrti plodu.

Protože výsledky prenatálních screeningových testů mohou vést k závažným důsledkům (komplikace průběhu gravidity po invazivních výkonech, ukončení gravidity, psychologický stres těhotné), je nutné trvat na přísném dodržování stanovených pravidel screeningového

programu. Vstup do screeningového programu by měl být podmíněn získáním informovaného souhlasu těhotné.

Zároveň je třeba vzhledem k charakteru prenatalního screeningu jako druhu genetického testování plně respektovat autonomii těhotné, informace související se screeningovým testem podávat nedirektivně a v plné míře využívat možností genetického poradenství nejen při komunikaci výsledků screeningového testu, ale zejména v souvislosti s navazující prenatalní diagnostikou.

Bez zajímavosti nejsou ani obecnější etické otázky kolem vymezení screenovaných poruch - někteří autoři např. považují Downův syndrom za určitou formu neurodiversity, stejně jako např. autismus atd.

Markery screeningu DS a VVV

Ideální prenatalní screeningový test by měl splňovat řadu protichůdných požadavků: přinášet nízká rizika pro těhotnou ženu i plod, být relativně jednoduchý, nenákladný a přitom poskytovat vysokou senzitivitu a specifitu

Systémy prenatalního screeningu Downova syndromu se snaží tomuto ideálu přiblížit současným využitím několika přístupů a kombinací jejich výsledků. Většina systémů modifikuje věkové riziko těhotné výsledky několika dalších biochemických a/nebo ultrazvukových markerů. Na každém screeningovém pracovišti jsou kalkulovány střední hodnoty využívaných kvantitativních markerů pro jednotlivé týdny gravidity ((tyto hodnoty jsou specifické pro jednotlivé screeningové laboratoře a ultrasonografisty). Do kalkulace individuálního rizika potom naměřené hodnoty vstupují v podobě násobku střední hodnoty (Multiple of Median; MoM) daného kvantitativního markeru. Tento postup umožňuje využití jednotného statistického modelu na různých pracovištích.

Kromě kvantitativních markerů mohou do výpočtu vstupovat další markery kvalitativní/kategorické, které známým způsobem modifikují individuální riziko pro screenovanou poruchu.

Věk těhotných

Věk těhotné je základním faktorem umožňujícím stanovení individuálního rizika porodu dítěte s Downovým syndromem. Riziko Downova syndromu s věkem těhotné stoupá (přibližně 1/1600 ve 20 letech, 1/380 v 35 letech, 1/40 ve 45 letech).

Biochemické markery:

1. *Alfafetoprotein (AFP)*

AFP je specifický fetální alfa-globulin. AFP je primárně produkován žloutkovým váčkem, od 13. týdne se jeho syntéza přesunuje do fetálních jater a postupně klesá až do porodu. Během fyziologického těhotenství klesá hladina AFP v plodové vodě a stoupá v mateřském séru. Stanovení vysoké hladiny AFP v plodové vodě mezi 15. a 20. týdnem těhotenství bylo využíváno k diagnostice otevřených poruch uzávěru neurální trubice. Na stejném principu je založen i screening těchto vad vyšetřením AFP v mateřském séru. Snížené hodnoty AFP v maternálním séru jsou naopak využívány ke screeningu Downova syndromu a jiných VCA plodu.

2. *Choriový gonadotropin (hCG) a jeho volná beta podjednotka (fβ-hCG)*

Choriový gonadotropin je produkován v buňkách syncytiotrofoblastu placenty (a v některých nádorech). Vedle kompletní, nedisociované molekuly hCG mohou v periferní krvi cirkulovat i menší množství volných podjednotek alfa, beta, případně další formy (např. tzv. „core-hCG“). Během prvního trimestru gravidity se koncentrace hCG rychle zvyšuje, dosahuje vrcholu v 8. - 10. týdnu a pak klesá. Vysoké hodnoty v maternálním séru jsou využívány pro screening Downova syndromu v I. (volná beta podjednotka) i II. (celkové hCG, volná beta podjednotka) trimestru gravidity. U jiných VCA plodu jsou hladiny hCG naopak sníženy (Edwardsův syndrom, triploidie aj.).

3. *Nekonjugovaný estriol (uE3)*

Estriol je hlavní steroidní hormon, syntetizovaný placentou. Estriol existuje v mateřské cirkulaci v malém množství jako volný steroid, ale hlavně jako glukuronid a sulfát. Ve fyziologickém těhotenství estriol plynule stoupá až do 40. týdne. Snížené hodnoty nekonjugovaného estriolu jsou pozorovány u Downova syndromu a jiných VCA plodu, ale i u některých dalších geneticky podmíněných onemocnění (např. syndrom Smith-Lemli-Opitz; SLOS).

4. *Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP-A)*

Enzym ze třídy metaloendopeptidáz, produkován buňkami syncytiotrofoblastu. V normálním těhotenství se hladina PAPP-A zvyšuje od 7. týdne. Nárůst je zpočátku téměř exponenciální a pokračuje během celého těhotenství. Snížené hodnoty v maternálním séru jsou využívány ke screeningu Downova syndromu, dalších VCA plodu, některých vrozených vývojových vad, komplikací gravidity a geneticky podmíněných onemocnění (např. Jacobsenův syndrom) v 1. trimestru těhotenství.

Ultrazukové markery

Nuchální translucence

Základním ultrazukovým markerem pro prenatální screening DS a VVV plodu je šíjové projasnění plodu (nuchální translucence; NT). Měření NT jako kvantitativního markeru rizika DS musí být prováděno certifikovaným ultrasonografistou mezi 11. - 14. týdnem gravidity. Hodnoty NT > 3,5 mm jsou samostatným patologickým nálezem asociovaným s rizikem nejen VCA plodu, morfologických vad, monogenních syndromů a komplikací gravidity (SP, fetální ztráty, IUGR)

Jako další USG markery jsou využívány např. osifikace nosní kosti (NB), regurgitace na trojčipé chlopni (TR) a reversní tok v ductus venosus (DV) plodu.

Screening fetální anatomie

- detekce strukturních anomálií plodu a minor markerů VCA v 18. - 20. týdnu gravidity. Názory na využití jako nezávislého markeru VCA se různí

Screeningové systémy využívají stanovení kombinace několika současně či sekvenčně stanovovaných kvantitativních markerů k dosažení vysoké DR při zachování vysoké senzitivity, a tedy únosně nízké falešné pozitivivity (false positivity rate; FPR). Např. pro detekci DS by test měl dosahovat DR 90 % při FPR 4 %. Výpočet individuálního rizika a epidemiologická kontrola screeningu jsou zajištěny specializovanými softwarovými produkty.

Nejčastějšími variantami jsou:

- **kombinovaný screening v I. trimestru:** PAPP-A + f β -hCG + NT
- **integrováný test a jeho sekvenční varianta:** PAPP-A + f β -hCG + NT + AFP + uE3
- **sérový integrováný test:** PAPP-A + f β -hCG + AFP + uE3

V ČR dosud rozšířené biochemické testy v 2. trimestru (double/triple test AFP + hCG (+ uE3) těchto parametrů nedosahují. Doporučuje se provést oba testy (1. a 2. trimestr) a vyhodnotit výsledek po dokončení všech vyšetření- tzv. kompletní integrováný test, který má nejvyšší DR a nejnižší FPR. Samotný triple test je doporučen pouze pro ženy, které se dostaví pozdě na vyšetření v I. trimestru, nebo při později zjištěné graviditě.

Varianta triple testu: **quadruple test** (+ [inhibin A](#)): screening DS, trisomy 18, NTD

Tabulka 17. Falešná pozitivita a výtěžnost (zdroj: SURUSS a FASTER, převzato z Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství 2010)

	Falešná pozitivita při 85% výtěžnosti [%]	Výtěžnost při 5% falešné pozitivě [%]
Kombinovaný test	3,8 – 6,8	85
Triple nebo double test.	9,3 - 14	69
Integrovaný test	0,8 – 1,2	94
Sérový integrovaný test	2,7 – 5,2	85
Quadruple test	6,3	82

Příklady moderních screeningových systémů

Spojené státy americké

Doporučení American College of Obstetricians and Gynecologists 2007:

- nabídnout screeningový test u všech žen (i nad 35 let věku);
- všem ženám (bez ohledu na věk) umožnit přístup k diagnostickému testu, budou-li si to přát;
- měření NT doplňovat biochemickým screeningem;
- měření NT zahrnovat do testu pouze za předpokladu zajištění odpovídající kvality;
- ženám s pozitivním screeningem zajistit genetické poradenství a přístup k diagnostickému testu;
- zachovat biochemický screening NTD ve 2. trimestru

Dánsko

Systematický screening Downova syndromu od 2005, cca 65 000 porodů/rok

Zvolen kombinovaný test v 1. trimestru, v letech 2005 a 2006 pokles živě rozených dětí s trisomií 21 na 50 % a zároveň pokles invazivních výkonů prenatalní diagnostiky na 50 %. Dosažena DR 86 % a 93 %, FPR 3.9 % a 3.3 %.

81 % screening pozitivních těhotných podstoupilo invazivní diagnostiku, podíl těhotných, které odmítly screening, není uváděn.

Velká Británie

Strategie screeningu Downova syndromu Národní zdravotní služby 2011:

Vychází z analýzy dat Down's syndrome Screening Quality Assurance Support Service (DQASS) 2010

Screening Downova syndromu musí být nabídnut všem těhotným ženám bez ohledu na věk.

Screening prováděn mezi délkou gravidity 10+0 – 20+0

- od 10+0 "Combined Screening" (PAPP-A, fβ-hCG a NT) doporučená strategie u všech žen, kde je to možné.
- od 14+2 do 20+0 "Quadruple Test" (hCG, AFP, uE3 a inhibin A) pro později diagnostikovaná těhotenství

Cíle k 1. dubnu 2011:

- DR >90% při SPR <2% pro "Combined Screening"
- DR >75% při SPR <3% pro "Quadruple Test"

Česká republika

V České republice se v době vzniku této statě (2011) neexistuje jednotná strategie provádění celoplošného screeningu Downova syndromu a VVV. Převažuje využití sekvenční varianty integrovaného testu, kombinovaného testu v I. trimestru a biochemického screeningu ve II. trimestru. Provádění se řídí dokumentem „Doporučení k laboratornímu screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství“ (vypracovaly Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP, Česká společnost nukleární medicíny ČLS JEP -sekce imunoanalytických metod, Česká gynekologická a porodnická společnost ČLS JEP a Společnost lékařské genetiky ČLS JEP v roce 2006)

Perspektiva screeningu DS

Výzkum nových biochemických markerů:

- hyperglykosylované hCG (Invasive Trophoblastic Antigen; ITA) - dle SURUSS může nahradit hCG/fβ-hCG
- ADAM12 (A disintegrin and metalloprotease) - v 1. trimestru těhotenství s Downovým syndromem zjištěna hodnota 0.14 MoM (odhadovaná DR 82 %/FPR 3.2% při cut-off riziku 1/400 (Laigaard J et al. 2003).

Výzkum nových rizikových faktorů umožňujících modifikaci individuálního rizika (např. kouření, hormonální preparáty, různé genové mutace).

Nejnovější vývoj naznačuje, že screening Downova syndromu (a dalších numerických chromosomálních aberací i jiných geneticky podmíněných poruch plodu) by mohl být záhy nehrzen neinvazivním diagnostickým testem založeným na detekci volných nukleových kyselin plodu (ffDNA) v cirkulaci matky. Základními přístupy jsou v současnosti zejména metody detekce cílových sekvencí fetálního genomu masivně paralelní DNA sekvenací a metody založené na odlišné methylaci fetálních a maternálních genů.

Vybraná literatura

1. Ball RH, Caughey AB, Malone FD et al. First- and second-trimester evaluation of risk for Down syndrome. *Obstet Gynecol.* 2007 Jul;110(1):10-7.
2. Bogart, M.H., Pandian, M., R., Jones, O., W.: Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with chromosome abnormalities. *Prenat. Diagn.* 7, 1987, 623-630
3. Brambati, B. Tului, L. Bonacchi, I., K. Shrimanker, Y. Suzuki & J. G. Grudzinskas (1994) Serum PAPP-A and free beta-hCG are first-trimester screening markers for Down syndrome. *Prenat Diagn* 14: 1043-1047
4. Brock, D.J.H., Barron, L., Duncan, P.: Significance of elevated mid-trimester maternal plasma alpha-fetoprotein values. *Lancet*, I, 1281 - 1282, 1979.
5. Canick, J., A., Knight, G., J., Palomaki, G., E. et al.: Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br.J. Obstet. Gynecol.* 95, 1988, 330- 333
6. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KC, Lun FM, Go AT, Lau ET, To WW, Leung WC, Tang RY, Au-Yeung SK, Lam H, Kung YY, Zhang X, van Vugt JM, Minekawa R, Tang MH, Wang J, Oudejans CB, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ.* 2011 Jan 11;342:c7401. doi: 10.1136/bmj.c7401.
7. Cuckle, H., Lilford, R., J.: Pregnancy associated plasma protein A in Down's syndrome. (letter). *BMJ* 305, 1992, 425
8. Deng YH, Yin AH, He Q, Chen JC, He YS, Wang HQ, Li M, Chen HY. Non-invasive prenatal diagnosis of trisomy 21 by reverse transcriptase multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Feb 9. [Epub ahead of print]
9. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. *Klin. Biochem. Metab.*, 19 (40), 2010, No. 1, p. 45- 47.
10. Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, Lu V, McCullough R, McCarthy E, Nygren AO, Dean J, Tang L, Hutchison D, Lu T, Wang H, Angkachatchai V, Oeth P, Cantor CR, Bombard A, van den Boom D. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Feb 9. [Epub ahead of print]
11. Epigenetic-genetic chromosome dosage approach for fetal trisomy 21 detection using an autosomal genetic reference marker. *PLoS One.* 2010 Dec 20;5(12):e15244.
12. Haddow, J.E., Palomaki, G.E., Knight, G.J., Cunningham, G.C., Lustig, L.S., Boyd, P.A.: Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with serum markers for screening. *N.Engl.J.Med.*, 330, 1114-1118, 1994.

13. Haddow, J.E., Palomaki, G.E., Knight, G.J., Williams, J., Pulkkinen, A., Canick, J.A., Saller, D.N., Bowers, G.B.: Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N.Engl.J.Med.* 327, 588-593., 1992.
14. Laigaard J, Christiansen M, Frohlich C, Pedersen BN, Ottesen B, Wewer UM.. The level of ADAM12-S in maternal serum is an early first-trimester marker of fetal trisomy 18. *Prenat Diagn.* 2003 Dec 30;23(13):1086-91.
15. Macri, J.N., Spencer, K., Garver, K., Buchanan, P.D., Say, B., Carpenter, N.J., Muller, F., Boue, A.: Maternal serum free beta hCG screening: results of studies including 480 cases of Down syndrome. *Prenat. Diagn.*, 14, 97-103, 1994.
16. Merkatz, I., R., Nitowsky, H., M., Macri, J., N., Johnson, W., E.: An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 148, 1984, 886- 894
17. Nicolaides, K., H., Snijders, R., J., M., Gosden, R., J., M. et al.: Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet*, 340, 1992, s. 704 - 707
18. Odibo AO, Gray DL, Dicke JM, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. *Obstet Gynecol.* 2008 Mar;111(3):589-95.
19. Pregnancy loss rates after mid-trimester amniocentesis. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L et al. *Obstet Gynecol.* 2006 Nov;108(5):1067-72.
20. Screening vrozených vývojových vad v I. a II. trimestru. In: *Kompendum/ Prenatální diagnostika a zobrazovací metody 2004* [online]. Accessed on Jul 5, 2011. <<http://clanky.gynstart.cz/article.php?sid=146&mode=thread&order=0>>
21. Spencer, K., Macri, J., N.: Early detection of Down's syndrome using free beta human chorionogonadotropin. *An. Clin. Biochem.* 29, 1992, 349- 350
22. Tong YK, Chiu RW, Akolekar R, Leung TY, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM.
23. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in perspective. *BJOG.* 2004 Jun;111(6):521-31.
24. Wald NJ, Stone, R., Cuckle, H., S. et al.: First trimester concentrations of pregnancy associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's syndrome. *BMJ* 305, 1992, 28
25. Wald NJ. Prenatal screening for open neural tube defects and Down syndrome: three decades of progress. *Prenat Diagn* 2010; 30: 619–621.

2.3.2 Novorozenecký screening v České republice

Felix Votava, Petr Dejmek

Úvod

Pokud plod projde sítí prenatálního screeningu a těhotenství je zdárně ukončeno, stane se novorozenec po narození předmětem zájmu další screeningové aktivity zdravotnického systému - tzv. novorozeneckého screeningu. Pojmem novorozenecký screening (NS) se označuje aktivní, celoplošné vyhledávání vrozených a/nebo dědičných onemocnění či poruch v jejich časném, preklinickém stadiu, dříve než se stačí klinicky projevit a nenávratně poškodit zdraví či dokonce zapříčinit úmrtí novorozence. Podmínkou je, aby byli vyšetřeni všichni novorozenci narození na daném území. V širším smyslu pojmu lze pod NS zahrnout i každé preventivní klinické vyšetření neonatologem či pediatrem při pátrání po vrozených vývojových vadách či vrozených infekcích, vyšetření ortopedem při vyhledávání vrozené dysplazie kyčlí, vyšetření oftalmologem při vyhledávání vrozené katarakty (Magnusson a Presson 2005, Sotomi et al. 2007, Magnusson et al. 2007), vyšetření sluchu při vyhledávání vrozené hluchoty (Johnson et al. 2005, Gaffney et al. 2010) či ultrazvukové vyšetření ledvin k časnému zachytu vrozených vývojových vad urotraktu (Scott et al. 1991, Hálek et al. 2010). Předmětem kapitoly je NS v užším smyslu, čímž se rozumí vyhledávání chorob na základě stanovení koncentrace specifické látky – analytu, resp. někdy i průkazu genové mutace v kapce krve odebrané na filtrační papír všem novorozencům v dané populaci. Kapky krve se po zaschnutí (proto se nazývají "suché kapky krve") odesílají běžnou poštou do příslušných laboratoří k analýze, proto je tento způsob NS spojován někdy s přívlastkem "laboratorní". Systém NS nespočívá pouze v laboratorní analýze, ale zahrnuje celou logistiku preanalytické části (informovaný souhlas rodičů, způsob, podmínky, časování a event. opakování odběrů suché kapky krve), analytické části (jaké analyty, jakým způsobem a kde jsou měřeny) a postanalytické části (postupy screeningových laboratoří při pozitivním či nejednoznačném nálezu, návaznost na klinická pracoviště s optimalizací dalšího diagnostického postupu a zabezpečení dlouhodobé léčby a sledování pacientů, vyhodnocování a zpracování dat screeningu, skladování a využití vzorků). V České republice (ČR) je způsob provádění NS definován „Metodickým návodem k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče“, který se aktualizuje dle dosaženého stupně medicínského poznání, rozvoje NS a celospolečenských podmínek. Metodický návod se publikuje ve Věstníku Ministerstva zdravotnictví ČR. Poslední aktualizace byla zveřejněna v srpnu 2009. Metodický návod je pro náš zdravotnický systém závazný, definuje „lege artis“ postup. Přesné znění Metodického návodu a řadu dalších informací ohledně NS lze nalézt na webových stránkách www.novorozeneckyscreening.cz.

Historie a principy novorozeneckého screeningu

Zakladatelem NS je profesor Robert Guthrie (1916-1995) z univerzity v Buffalu ve státě New York, USA. V roce 1963 vyvinul a následně i zavedl do celoplošného provádění jednoduchou, levnou a spolehlivou semikvantitativní metodu měření koncentrace fenylalaninu (založenou na principu inhibice růstu bakterií) pro NS fenylketonurie (Guthrie a Susi 1963, Guthrie 1969). Po roce 1965 se začal tento NS celosvětově rychle rozšiřovat.

Zahájení celoplošného screeningu si vyžádalo formulování obecných pravidel pro jeho provádění, což učinili zadáním Světové zdravotnické organizace Wilson a Junger v roce 1968. Předpoklady pro zahájení celoplošného screeningu lze shrnout do následujících bodů (Wilson a Jungner 1968):

- Vyšetřovaná choroba musí být jasně definována – musí existovat jednoznačný diagnostický nástroj k potvrzení či vyloučení choroby.
- Choroba představuje významný zdravotně sociální problém jak individuálně, tak i celospolečensky.
- Choroba je častá, má v dané populaci určitou incidenci. Hranice incidence je relativní a je ovlivněna především klinickou závažností choroby, možnostmi léčby, metodikou screeningového testu a faktory ekonomickými. Ve vyspělých zemích se věnuje velké úsilí prosazení práva pacienta postiženého vzácnou chorobou být diagnostikován a léčen způsobem odpovídajícím současným možnostem medicíny. Hranici pro NS lze nyní spatřovat v incidenci 1:200 000.
- Zachycení choroby v jejím časném, presymptomatickém stadiu umožňuje taková terapeutická opatření, která zásadním způsobem pozitivně ovlivní průběh choroby či dokonce sníží její mortalitu. Terapeutická opatření musí být dostupná a zajištělná pro všechny zachycené jedince. Péče o pacienty je většinou soustředěována do specializovaných center.
- Existuje obecně uznaný screeningový test, tj. choroba je v preklinickém stadiu detekovatelná obecně (odbornou veřejností) uznaným laboratorním testem v suché kapce krve s dostatečnou senzitivitou a specifitou. Hlavními měřítky věrohodnosti screeningového testu je obecně přijatá hranice negativity ("cut off") a akceptovatelná zátěž zdravé části novorozenecké populace falešnou pozitivitou. Při zvažování hraje roli, co falešná pozitivita u té které choroby pro zdravého jedince konkrétně představuje. Důležitým parametrem věrohodnosti screeningového testu je pochopitelně i akceptovatelná falešná negativita.
- Společnost je schopna zajistit provádění laboratorního testu u všech svých novorozenců po stránce organizační a ekonomické.
- Přínos NS má být pozitivní vůči jeho nákladům (pozitivní poměr „benefit/costs“).
- Zavedený NS je kontinuální proces, jeho věrohodnost a účinnost (efektivita) musí být trvale sledována a vyhodnocována.

Je patrné, že řada uvedených tvrzení je relativní, závislá na konkrétních podmínkách a ekonomické síle společnosti.

NS fenylketonurie se stal historicky prvním NS i v ČR (Blehová et al. 1976, Čechák et al. 2001, Hyánek et al. 1972). Pravidelně, celoplošně je prováděn od roku 1975. Koncentrace fenylalaninu v suché kapce krve byly měřeny semikvantitativně (mikrobiologickým bakteriálně inhibičním testem podle Guthrieho, papírovou chromatografií) nebo kvantitativně (fluoro-, enzymo- imunoesejí či tandemovou hmotnostní spektrometrií). Hlavním smyslem screeningu je včasné zahájenou léčbou (dieta s monitorací hladin fenylalaninu) zabránit ireverzibilnímu poškození CNS.

V druhé polovině 70.let 20.století se začal ve světě zavádět **NS kongenitální hypotyreózy** (Larsen et al. 1976, Irie et al. 1976), který je založen na měření koncentrace [tyroxinu \(T4\)](#) a/nebo [tyrotropinu \(TSH\)](#) v suché kapce krve pomocí radio-, fluoro- či enzymo- imunoeseje. Cílem je včasné zahájenou substitucí hormonů štítné žlázy zabránit ireverzibilnímu poškození CNS. V ČR byl zařazen v pořadí jako druhý celoplošně pravidelně prováděný NS (Hníková et al. 1989) v roce 1985.

Počátky dalšího **NS - kongenitální adrenální hyperplazie** - se ve světě datují od konce 70.let minulého století (Pang et al. 1977). Tento NS je založen na měření koncentrace [17 \$\alpha\$ -hydroxyprogesteronu](#) v suché kapce krve (fluoro- či enzymo- imunoesejí). Výsledkem screeningu je včasná substituce hormonů nadledvin, která zabrání život ohrožujícímu metabolickému rozvratu a rozvoji předčasné puberty (Riepe a Sippell 2007). Na základě důkazu selhávání klinické diagnostiky (Kovács et al. 2001, Strnadová et al. 2007) a výsledků pilotní studie (Votava et al. 2002, Votava et al. 2005) je v ČR prováděn od roku 2006 jako třetí, celoplošný pravidelný NS.

Díky vědeckému a technologickému pokroku se počet chorob, které je možno diagnostikovat ze suché kapky krve na filtračním papírku stále navyšuje. Významným momentem bylo implementování metodiky tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS), která provádí komplexní rozbor celého spektra analytů rozdělených dle poměru hmotnosti a náboje jedním analytickým úkonem (Millington et al. 1990, Wilcken et al. 2003). To umožňuje zachytit až několik desítek dědičných metabolických poruch (DMP). Nejčastěji se MS/MS používá k detekci DMP ze skupiny aminoacidopatií včetně fenylketonurie, poruch cyklu močoviny a organických acidurií, dále poruch β -oxidace mastných kyselin, peroxisomálních a lysozomálních onemocnění aj (Rashed et al. 1995, Tureček et al. 2007). Hlavním smyslem je zachytit takové choroby, u kterých lze terapeutickými postupy předejít život ohrožujícímu energetickému či metabolickému rozvratu a/nebo dlouhodobému poškození zdraví (především CNS). Na základě proběhlé pilotní studie (Chrastina et al. 2003, Chrastina et al. 2007, Chrastina et al. 2009) se metodika MS/MS pravidelně celoplošně v ČR používá pro NS od října roku 2009.

Dalším NS, který se rozšiřuje až v posledních letech, je **NS cystické fibrózy (CF)**, který je založen na stanovení koncentrace imunoreaktivního trypsinogenu (IRT) pomocí immunoeseje. IRT je dostatečně senzitivní, ale málo specifický, proto se provádí ještě druhý stupeň screeningu – stanovení mutací genu pro CF (gen *CFTR*) přímo v těch kapkách krve, kde byla zjištěna hladina IRT nad „cut-off“ (Wilcken 2007). Smyslem NS je včasné (do 2 měsíců věku) zahájení léčby a tím významné zlepšení průběhu a prognózy choroby a i snížení nákladů na léčbu komplikací vzniklých z pozdní diagnostiky (Sims et al. 2007, Sims et al. 2007, Comeau et al. 2007). Česká pilotní studie byla ukončena (Holubová et al. 2007, Balasčáková et al. 2009) a pravidelný celoplošný NS cystické fibrózy byl zahájen v říjnu roku 2009.

Novorozenecký screening v zahraničí

Z pohledu Evropy je pro systémy NS v jednotlivých státech charakteristická značná roztržitost a nejednotnost ve všech částech logistiky systémů (Loeber 2007, Loeber 2009, Bodamer et al. 2007, Dhondt 2007). Příčinou je, že se systémy NS vyvíjely na základě konkrétních historických, geografických, medicínských, ekonomických a i politických podmínek daného státu a tyto vlivy i nadále rozhodují o fungování celého systému. Neexistuje jeden univerzální, nejlepší systém NS. Evropskou nejednotnost je možné dokumentovat růzností počtu a spektra screenovaných chorob v jednotlivých státech (Tabulka 18) nebo růzností počtu screeningových laboratoří. Dvacet jeden stát ze 47 evropských má jednu centrální screeningovou laboratoř - např. Rakousko, Slovensko, Portugalsko, Švédsko; 10 států je pokryto 2-5 laboratořemi - např. ČR, Holandsko, Švýcarsko, Belgie a 16 států má více laboratoří - např. Polsko 8, Německo 13, Francie a Itálie 22, extrémem je Finsko, kde neexistuje žádná centrální laboratoř, analýza se provádí prakticky v každé porodnici (Autti-Ramo et al. 2005). Je nasnadě, že ve státech s menším počtem laboratoří se nové (=drahé) technologie NS zavádí ekonomicky i organizačně snadněji.

Tabulka 18. Přehled pravidelně prováděných celoplošných novorozeneckých screeningů v Evropě (celkem 47 států včetně Albánie, Arménie, Ázerbájdžánu, Gruzie, Turecka; Skotsko a Wales jsou počítány jako samostatné státy), stav 2010.

Onemocnění	Prevalence (přibližně)	Počet a přehled evropských států provádějících pravidelný celoplošný NS
PKU	1:8 000	42 Z důvodu nízké prevalence neprovádí Finsko a Malta, dále neprovádí Albánie, Arménie a Ázerbájdžán.
CH	1:4 000	44 Neprovádí Albánie, Ázerbájdžán a Moldavsko.
MCAD	1:10 000	17 Provádí Belgie, CR, Dánsko, Holandsko, Itálie, Island, Lichtenštejnsko, Německo, Norsko, Maďarsko, Portugalsko, Rakousko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, Velká Británie a Turecko.

CAH	1:10 000	16 Provádí Belgie, ČR, Francie, Holandsko, Itálie, Lichtenštejnsko, Lucembursko, Německo, Malta, Rakousko, Rusko, Slovensko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, Turecko.
CF	1:4 000	14 Provádí Belgie, ČR, Francie, Holandsko, Itálie, Německo, Rakousko, Rusko, Španělsko, Skotsko, Slovensko, Turecko, Velká Británie, Wales.
GAL	1:40 000	13 Provádí Belgie, Holandsko, Irsko, Itálie, Lichtenštejnsko, Německo, Maďarsko, Rakousko, Skotsko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.
BD	1:80 000	11 Provádí Belgie, Holandsko, Itálie, Lichtenštejnsko, Německo, Maďarsko, Rakousko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.
G6PD	Endemicky až 1:25	5 Provádí Belgie, Itálie, Německo, Řecko a Turecko.
Rozšířený NS DMP pomocí MS/MS (kromě PKU a MCAD). Spektra a počty vyšetřovaných DMP se v jednotlivých státech liší.		14 Provádí Belgie, CR, Holandsko, Itálie, Island, Lichtenštejnsko, Německo, Norsko, Maďarsko, Portugalsko, Rakousko, Švédsko, Švýcarsko, Turecko.

Vysvětlivky: NS = novorozenecký screening; PKU = fenylketonurie; CH = kongenitální hypotyreóza; MCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem; CAH = kongenitální adrenální hyperplazie; CF = cystická fibróza; GAL = galaktosémie; BD = deficit biotinidázy; G6PD = deficit glukozo-6-fosfát dehydrogenázy; DMP = dědičné metabolické poruchy; MS/MS = tandemová hmotnostní spektrometrie.

Logistika systému může být někdy překážkou zavedení nového NS, které je možné jen po sofistikované změně systému - příkladem může být absence centrálních laboratoří ve Finsku, která brání zavedení drahých technologií či pozdní odběr vzorků krve ve Velké Británii, který znehodnocuje NS onemocnění, u kterých o efektivitě rozhoduje včasnost výsledku. Společným jmenovatelem pro systémy NS v Evropě je používání metody suchých kapek krve a zahrnutí minimálně fenylketonurie a kongenitální hypotyreózy do spektra vyšetřovaných chorob. Dalším společným jmenovatelem je expanzivnost - snaha o zavádění nových novorozeneckých screeningů. Odborné mezinárodní zaštitění představuje ISNS (International Society of Neonatal Screening, www.isns-neoscreening.org), která pořádá celosvětové a regionální (kontinentální) kongresy. 6. evropský kongres této organizace se konal 26.-28. dubna 2009 v Praze (*Abstracts od the 6th European Regional Meeting in Neonatal Screening*). V USA se počet pravidelně celoplošně vyšetřovaných onemocnění v jednotlivých státech unie pohybuje od 13 v Pensylvánii po 53 v Jižní Karolíně, ve většině států mezi 30-45.

Americká akademie lékařské genetiky (American College of Medical Genetics – ACMG) po několika letech široké odborné diskuze vydala v roce 2006 (Watson 2006, Howell 2009, Natowicz 2005) seznam onemocnění vhodných pro NS. Seznam rozdělila na 30 onemocnění tzv. panelu primárního významu, u kterých je efekt včasné diagnostiky pomocí NS jednoznačnější a na 25 onemocnění tzv. panelu sekundárního významu (Tabulka 19).

Tabulka 19. Onemocnění doporučená k vyhledávání pomocí novorozeneckého screeningu podle Americké akademie lékařské genetiky (ACMG)

Skupina onemocnění	Panel primárního významu	Panel sekundárního významu
Organické acidurie/acidémie	IVA; GA I; HMG; MCD; MUT; Cb1 A,B; 3MCC; PROP; BKT	Cb1 C,D; 2M3HBA; IBG; 2MBG; 3MGA; MAL
Poruchy oxidace mastných kyselin	MCAD; VLCAD; LCHAD; TFP; CUD	M/SCHAD; SCAD; MCKAT; GA II; CPT I; CPT II; CACT; DE REDUCT
Poruchy metabolismu aminokyselin	PKU; MSUD; HCY; TYR I; ASA; CIT	HPA; TYR II; BIOPT (BS); TYR III; ARG; BIOPT (REG); MET; CIT II
Hemoglobinopatie	SCA; Hb S/Th; Hb S/C	Variantní Hb včetně HbE
Jiná onemocnění	CH; BD; CAH; GAL; HEAR; CF; SCID	GALE; GALK

Vysvětlivky: IVA = izovalerová acidurie; GA I = glutarová acidurie I.typu; HMG = deficit lyázy 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA ; MCD = mnohočetný deficit karboxyláz ; MUT = deficit metylmalonyl-CoA mutázy; Cb1 A,B = metylmalonová acidémie forma Cb1A a B; 3MCC = deficit karboxylázy 3-methylcrotonyl-CoA ; PROP = propionová acidurie; BKT = deficit β -ketothiolázy; MCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem; VLCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem; LCAHD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem; TFP = deficit trifunkčního mitochondriálního proteinu; CUD = defekt vychytávání karnitinu ; PKU = fenylketonurie; MSUD = leucinóza (nemoc javorového sirupu); HCY = homocystinurie; TYR I = tyrosinémie I. typu; ASA = arginikuscinátová acidurie; CIT = citrulinémie I.typu; SCA = srpkovitá anémie; Hb S/Th = S- β thalasémie; Hb S/C = kombinovaná hemoglobinopatie S a C; CH = kongenitální hypotyreóza; BD = deficit biotinidázy; CAH = kongenitální adrenální hyperplazie; GAL = galaktosémie; HEAR = poruchy sluchu; CF = cystická fibróza; Cb1 C,D = metylmalonová acidémie forma Cb1 C a D; 2M3HBA = 2-metyl-3hydroxybutyrátová acidurie; IBG = deficit dehydrogenázy izobutyryl-CoA; 2MBG = deficit dehydrogenázy 2-metylbutyryl-CoA ; 3MGA = 3-metylglutakonová acidurie; MAL = malonová acidémie; M/SCHAD = deficit dehydrogenázy hydroxyacyl-CoA mastných kyselin se středně dlouhým a krátkým řetězcem ; SCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s krátkým řetězcem; MCKAT = deficit thiolázy 3-ketoacyl-CoA mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem ; GA II = glutarová acidurie II.typu; CPT I = deficit karnitin palmitoyltransferázy I ; CPT II = deficit karnitin palmitoyltransferázy II; CACT = deficit karnitin-acylkarnitintranslokázy; DE REDUCT = deficit reduktázy dienoyl-CoA; HPA = non PKU hyperfenylalaninémie; TYR II = tyrosinémie II.typu; BIOPT (BS) = defekt syntézy biopterinu ; TYR III = tyrosinémie III.typu; ARG = argininémie; BIOPT (REG) = defekt regenerace biopterinu; MET = hypermethioninémie; CIT II = citrulinémie II.typu; GALE = deficit epimerázy galaktózy; GALK = deficit galaktokinázy; SCID = těžká kombinovaná imunodeficience

Současný novorozenecký screening v České republice

V ČR je zmíněným Věstníkem MZ ustanoven a z prostředků veřejného zdravotního pojištění hrazen novorozenecký screening celkem 13 vrozených onemocnění. Tento rozšířený NS byl zahájen 1.10.2009. Celkové riziko, že novorozenec onemocní některou ze 13 vyšetřovaných chorob činí 1:1200; některou z endokrinních chorob 1:2900; některou z dědičných metabolických poruch 1:4000 a cystickou fibrózou 1:4000. Přehled všech 13 screenovaných onemocnění a hlavní smysl včasné diagnostiky pomocí NS je uveden v tabulce 20.

Tabulka 20. Přehled chorob vyhledávaných novorozeneckým screeningem v ČR (řazeno chronologicky dle roku zahájení).

Onemocnění	Prevalence	Od	Analyt	Metody	Smysl=efekt včasného záchytu		
PKU	1:8 000	1975	Phe, Phe/Tyr	(BI, C, I) MS/MS	Speciální dieta s nízkým obsahem fenylalaninu zabrání nevratnému poškození CNS.		
CH	1:4 000	1985	TSH	I	Substituce hormony štítné žlázy zabrání nevratnému poškození CNS.		
CAH	1:10 000	2006	17OHP	I	Substituce gluko- a mineralokortikoidy zabrání život ohrožující solné krizi a u lehčích forem zabrání předčasné pubertě se ztrátě dospělé výšky.		
CF	1:4 000	2009	IRT, CFTR	I+MG	Komplexní léčba zahájena do 2 měsíců věku zlepší průběh a prognózu		
MCAD	1:50 000		Profil acyl-karnitinů	MS/MS	Režimová a dietní opatření s cílem prevence hypoglykemií zabrání život ohrožujícímu selhání energetického metabolismu a poškození CNS.		
LCHAD	1:35 000						
VLCAD	1:100 000						
CPT I	<1:100 000						
CPT II	<1:100 000						
CACT	<1:100 000						
MSUD	1:100 000					Valin Leucin Isoleucin	Speciální dieta s nízkým obsahem větvených aminokyselin sníží riziko život ohrožujícího metabolického rozvratu a poškození CNS.
GA I	1:100 000					Glutaryl-karnitin	Speciální dieta s nízkým obsahem lysinu sníží riziko život ohrožujícího metabolického rozvratu a poškození CNS
IVA	1:100 000	Izovaleryl-karnitin				Speciální dieta s nízkým obsahem leucinu a substituce glycinem sníží riziko život ohrožujícího metabolického rozvratu a poškození CNS	

Vysvětlivky: PKU = fenyketonurie resp. hyperfenylalaninémie; CH = kongenitální hypotyreóza; CAH = kongenitální adrenální hyperplazie; CF = cystická fibróza; MCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem; LCHAD = deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem; VLCAD = deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem; CPT I = deficit karnitinpalmitoyltransferázy I; CPT II = deficit karnitinpalmitoyltransferázy II; CACT = deficit karnitinacylkarnitintranslokázy; MSUD = leucinóza (nemoc javorového sirupu); GA I = glutarová acidurie typ I; IVA = izovalerová acidurie; Od = rok zahájení pravidelného celoplošného novorozeneckého screeningu v České republice; Analyt = měřená substance; Phe = fenylalanin, Tyr = tyrosin; TSH = tyreoidu stimulující hormon; 17OHP = 17-hydroxyprogesteron; IRT = imunoreaktivní trypsinogen; CFTR = gen pro cystickou fibrózu; Metody = laboratorní analytické metody používané v ČR pro screeningové vyšetření. BI = inhibice růstu bakterií; C = chromatografie; I = imunoesej (fluoro- či enzymo-); MS/MS = tandemová hmotnostní spektrometrie; MG = molekulárně genetické vyšetření. Pozn.: u PKU metody uvedené v závorce se používaly dříve, od 2009 pouze MS/MS.

Suché kapky krve jsou odebírány z patičky mezi 48. - 72. hodinou života novorozence. Přehled laboratoří, do kterých jsou primárně zasílány suché kapky na filtračním papírku z novorozeneckých oddělení je uveden v tabulce 21. Finanční náklady zdravotních pojišťoven na systém novorozeneckého screeningu představují částku 746.- Kč na jednoho novorozence.

Tabulka 21. Laboratoře novorozeneckého screeningu v ČR, do kterých jsou primárně odesílány vzorky suchých kapek krve na filtračním papírku

Laboratorní vyšetření dědičných poruch metabolismu metodou tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) provádí a jedna kartička resp. jeden list dvojité kartičky se zasílá:

Ústav dědičných metabolických poruch, Všeobecná fakultní nemocnice, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2

nebo

Laboratoř dědičných metabolických poruch. Fakultní nemocnice Olomouc, I.P.Pavlova, 775 20 Olomouc

Laboratorní vyšetření kongenitální hypotyreózy (CH), kongenitální adrenální hyperplazie (CAH) a cystické fibrózy (CF) pomocí imunoanalytických metod provádí a jedna kartička resp. jeden list dvojité kartičky se zasílá:

Laboratoř novorozeneckého screeningu, Klinika dětí a dorostu, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

nebo

Fakultní nemocnice Brno, Černopolní 9, 61300 Brno, pracoviště Dětská nemocnice, Oddělení klinické biochemie a hematologie.

Úloha imunoanalytických metod

V novorozeneckém screeningu jsou využívány imunoanalytické metody pro stanovení koncentrace proteinů či jiných velkých molekul, jak bylo zmíněno výše. Celosvětově nejrozšířenější metodou je fluoroimunoassay patent Delfia[®].

Princip této metody je imunochemická reakce antigen-protilátka (vazba antigenu na specifickou protilátku). U imunofluorescenčního stanovení je antigen či protilátka označena "fluorescenční sondou". Jako sondy se používají cheláty vzácných zemin (Eu,Sm,Tb), které jsou následně z komplexu uvolněny a jejich fluorescence je po té změřena.

Např. v případě screeningu kongenitální adrenální hyperplazie (CAH) a kongenitální hypotyreózy (CH) je jako fluorescenční sonda použito europium (Eu).

Pro detekci pacientů s kongenitální hypotyrózou se měří koncentrace tyrotropinu (TSH). Současná hladina cut-off je 15 mIU/l. U všech novorozenců s TSH nad touto hladinou je v žilní krvi stanoven volný tyroxin (fT4) a opakováno TSH k potvrzení či vyloučení hypotyreózy.

Pro záchyt pacientů s kongenitální adrenální hyperplazií (respektive s deficitem 21-

hydroxylázy) je měřena koncentrace 17 α -hydroxyprogesteronu (17-OHP). Interpretace cut-off je závislá na zralosti (gestačním věku a/nebo porodní hmotnosti) novorozence a jeho stáří ve dnech. Tabulka 22 ukazuje aktuálně používané hodnoty cut-off. Nejasně (mírně) zvýšené hladiny se řeší opakování náběru suchých kapek na filtrační papír až do poklesu 17-OHP do negativity či naopak vzestupu do jednoznačné positivity. Četnost falešné positivity ("false positivity rate", FPR) v prvním pravidelném odběru je okolo 0,5% novorozenců (u předčasně narozených ještě vyšší) a představuje zátěž zdravé části populace. V současné době jsou hledány cesty k jejímu snížení zaváděním druhého stupně tohoto novorozeneckého screeningu - např. molekulárně genetické vyšetření genu způsobujícího CAH (CYP21 gen) nebo stanovení profilu dalších steroidů přímo v té suché kapce, kde byl zjištěn zvýšený 17-OHP. K profilování steroidů se používá tandemová hmotnostní spektrometrie spojená s kapalinovou chromatografií - tzv. LC-MS/MS.

Tabulka 22. Hodnoty cutoff pro 17-hydroxyprogesteron (17OHP) v závislosti na zralosti novorozence a čase odběru

Gestační věk (týdny)	Porodní hmotnost (g)	17-OHP v suché kapce krve (ng/ml)										
		0-2 dny	3 dny	4-6 dní	Věk při odběru							14-19 dní
					7 dní	8 dní	9 dní	10 dní	11 dní	12 dní	13 dní	
≤27	< 900g	160	137	129	141	144	143	139	134	128	124	108
28	900-1099g	137	117	110	121	123	122	119	115	110	106	92
29	1100-1299g	117	100	94	103	105	104	102	98	94	91	79
30	1300-1499g	99	85	80	88	89	88	86	83	80	77	67
31	1500-1699g	84	71	67	74	75	75	73	70	67	65	56
32	1700-1899g	70	60	56	62	63	62	61	58	56	54	47
33	1900-2099g	57	49	46	51	51	51	50	48	46	44	39
34	2100-2299g	46	40	37	41	42	41	40	39	37	36	31
35	2300-2499g	37	31	30	32	33	33	32	31	30	29	25
36	2500-2699g	30	30	25	26	26	26	25	24	23	23	20
≥37	≥2700g	23	20	20	20	20	20	20	20	19	18	15

Dále je metodika Delfia využívána k měření IRT. Současná cut-off hodnota v ČR je 65 ng/ml, což představuje 99. percentil koncentrací IRT v novorozenecké populaci.

Závěr

Je patrné, že díky technologickému pokroku podléhají systémy NS neustálému vývoji a změnám. Metodiky založené na imunoanalýze hrají v tomto pokroku nezastupitelnou roli a díky jim je zachycována převážná většina pacientů a zásadním způsobem přispívá k základnímu smyslu novorozeneckého screeningu, to jest pomoci včasným záchytem choroby postiženým novorozencům.

Práce vznikla za podpory projektů: IGA MZ ČR 9986/3 a 9981/3, MSM0021620814

Vybraná literatura

1. Abstracts of the 6th European Regional Meeting in Neonatal Screening. Česko-slovenská Pediatrie, 2009, 4, s. 159-220.
2. AUTTI-RAMO, I., MAKELA, M., SINTONEN, H., et al. Expanding screening for rare metabolic disease in the newborn: an analysis of costs, effect and ethical consequences for decision-making in Finland. Acta Paediatrica, 2005, 8, p. 1126-1136.
3. BALASCAKOVA, M., HOLUBOVA, A., SKALICKA, V., et al. Pilot newborn screening project for cystic fibrosis in the Czech Republic: defining role of the delay in its symptomatic diagnosis and influence of ultrasound-based prenatal diagnosis on the incidence of the disease. Journal of Cystic Fibrosis, 2009, 3, p. 224-227.
4. BLEHOVÁ, B., PAŽOUTOVÁ, M., BLOUDKOVÁ, D., et al. Zhodnocení screeningu fenylketonurie za šest let trvání laboratoře. Československá Pediatrie, 1976, 7, s. 399-400.
5. BODAMER, O.A., HOFFMANN, G.F., LINDNER, M. Expanded newborn screening in Europe 2007. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2007, 4, p. 439-444.
6. ČECHÁK, P., HEJCMANOVÁ, L., PROCHÁZKOVÁ, D., et al. Výsledky screeningu hyperfenylalaninemií v českých zemích v letech 1970-2000. Československá Pediatrie, 2001, 11, s. 667-670.
7. CHACE, D.H., MILLINGTON, D.S., TERADA, N., et al. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. Clinical Chemistry, 1993, 1, p. 66-71.
8. CHRASTINA, P., BÁRTL, J., HORNÍK, P., et al. LCHAD deficiency - the most frequent fatty acid oxidation disorder in newborn screening in the Czech Republic. Česko-slovenská Pediatrie, 2009, 4, s. 175-176.
9. CHRASTINA, P., KOŠŤÁLOVÁ, E., PAULOVÁ, H., et al. Experience with screening by tandem mass spectrometry in the Czech Republic. The 5th European ISNS Congress in Newborn Screening, June 10-12th 2007, Reykjavík, Island, Abstracts book, p.41.
10. CHRASTINA, P., ŠŤASTNÁ, S., MYŠKOVÁ, H., et al. Tandemová hmotnostní spektrometrie – budoucnost novorozeneckého screeningu dědičných metabolických poruch. Česko-slovenská Pediatrie, 2003, 7, s. 464-467.
11. COMEAU, A.M., ACCURSO, F.J., WHITE, T.B., et al. Guidelines for implementation of cystic fibrosis newborn screening programs: Cystic Fibrosis Foundation workshop report. Pediatrics, 2007, 2, p. 495-518.
12. DHONDT, J.L. Neonatal screening: from the 'Guthrie age' to the 'genetic age'. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2007, 4, p. 418-422.
13. GAFFNEY, M., GREEN, D.R., GAFFNEY, C. Newborn hearing screening and follow-up: are children receiving recommended services? Public Health Report, 2010, 2, p. 199-207.
14. GUTHRIE, R. Screening for phenylketonuria. Triangle, 1969, 3, p.104-109.
15. GUTHRIE, R., SUSI, A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics, 1963, 32, p. 338-343.
16. HÁLEK, J., FLÖGELOVÁ, H., MICHÁLKOVÁ, K., et al. Diagnostic accuracy of postnatal ultrasound screening for urinary tract abnormalities. Pediatric Nephrology, 2010, 2, p. 281-287.
17. HNÍKOVÁ, O., KRAČMAR, P., ZELENKA, Z., et al. Screening of congenital hypothyroidism in newborns in Bohemia and Moravia. Endocrinologia Experimentalis, 1989, 2, p. 117-123.

18. HOLUBOVÁ, A., BALAŠČÁKOVÁ, M., SKALICKÁ, V., et al. Novorozenecký screening cystické fibrózy v České republice: závěry pilotní studie. *Česko-slovenská Pediatrie*, 2007, 4, s. 187-195.
19. HOWELL, R.R. Newborns screening in the United States: Decision making about the screening panel. *Česko-slovenská Pediatrie*, 2009, 4, s. 209-210.
20. HYÁNEK, J., HOZA, J., VINSOVÁ, N., et al. Výsledky hromadného screeningu vrozených metabolických poruch u novorozenců. *Československá Gynekologie*, 1972, 4, s. 208-209.
21. IRIE, M., ENOMOTO, K., ENOMOTO, H., et al. Microdetermination of TSH in dried blood spot--its use in the mass-screening for congenital or juvenile primary hypothyroidism. *Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi*, 1976, 3, p. 243-247.
22. JOHNSON, J.L., WHITE, K.R., WIDEN, J.E., et al. A multisite study to examine the efficacy of the otoacoustic emission/automated auditory brainstem response newborn hearing screening protocol: introduction and overview of the study. *American Journal of Audiology*, 2005, 2, p.178-185.
23. KOVÁCS, J., VOTAVA, F., HEINZE, G., et al. Lessons from 30 years of clinical diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia in five middle European countries. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001, 7, p. 2958-2964.
24. LARSEN, P.R., MERKER, A., PARLOW, A.F. Immunoassay of human TSH using dried blood samples. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1976, 5, p. 987-990.
25. LOEBER, J.G. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2007, 4, p. 430-438.
26. LOEBER, J.G. Neonatal screening, the European perspective. *Česko-slovenská Pediatrie*, 2009, 4, s. 159-161.
27. MAGNUSSON, G., JAKOBSSON, P., KUGELBERG, U., et al. Evaluation of screening procedures for congenital cataracts. *Acta Paediatrica*, 2003, 12, p. 1468-73.
28. MAGNUSSON, G., PERSSON, U. Screening for congenital cataracts: a cost-consequence analysis of eye examination at maternity wards in comparison to well-baby clinics. *Acta Paediatrica*, 2005, 8, p. 1089-1095.
29. Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče. *Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR*, 2009, 6, s. 7-14.
30. MILLINGTON, D.S., KODO, N., NORWOOD, D.L., et al. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 1990, 3, p. 321-324.
31. NATOWICZ, M. Newborn screening--setting evidence-based policy for protection. *New England Journal of Medicine*, 2005, 9, p. 867-870.
32. PANG, S., HOTCHKISS, J., DRASH, A.L., et al. Microfilter paper method for 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1977, 5, p. 1003-1008.
33. RASHED, M.S., OZAND, P.T., BUCKNALL, M.P., et al. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatric Research*, 1995, 3, p. 324-331.
34. RIEPE, F.G., SIPPELL, W.G. Recent advances in diagnosis, treatment, and outcome of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 2007, 4, p. 349-363.

35. SCOTT, J.E., LEE, R.E., HUNTER, E.W., et al. Ultrasound screening of newborn urinary tract. *Lancet*, 1991, 338, p. 1571-1573.
36. SIMS, E.J., CLARK, A., McCORMICK, J., et al. United Kingdom Cystic Fibrosis Database Steering Committee: Cystic fibrosis diagnosed after 2 months of age leads to worse outcomes and requires more therapy. *Pediatrics*, 2007, 1, p.19-28.
37. SIMS, E.J., MUGFORD, M., CLARK, A., et al. Cystic Fibrosis Database Steering Committee: Economic implications of newborn screening for cystic fibrosis: a cost of illness retrospective cohort study. *Lancet*, 2007, 9568, p. 1187-1195.
38. SOTOMI, O., RYAN, C.A., O'CONNOR, G., et al. Have we stopped looking for a red reflex in newborn screening? *Irish Medical Journal*, 2007, 3, p. 398-400.
39. STRNADOVÁ, K.A., VOTAVA, F., LEBL, J., et al. Prevalence of congenital adrenal hyperplasia among sudden infant death in the Czech Republic and Austria. *European Journal of Pediatrics*, 2007, 1, p.1-4.
40. TURECEK, F., SCOTT, C.R., GELB, M.H. Tandem mass spectrometry in the detection of inborn errors of metabolism for newborn screening. *Methods in Molecular Biology*, 2007, 359, p.143-157.
41. VOTAVA, F., KRAČMAR, P., RÁKOSNÍKOVÁ, V., et al. Novorozenecký screening kongenitální adrenální hyperplazie v České republice - výsledky roční pilotní studie u chlapců. *Česko-Slovenská Pediatrie*, 2002, 12, s. 690-696.
42. VOTAVA, F., TÖRÖK, D., KOVÁCS, J., et al. Estimation of the false-negative rate in newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *European Journal of Endocrinology*, 2005, 6, p. 869-874.
43. WATSON, M.S. Current status of newborn screening: decision-making about the conditions to include in screening programs. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*, 2006, 4, p. 230-235.
44. WILCKEN, B. Newborn screening for cystic fibrosis: techniques and strategies. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2007, 4, p. 537-543.
45. WILCKEN, B., WILEY, V., HAMMOND, J., et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *New England Journal of Medicine*, 2003, 348, p. 2304-2312.
46. WILSON, J.M.C., JUNGNER, G. Principles and practise of screening for disease. *Public Health Papers*, 1968, 34, Geneva World Health Organizaion.

2.3.3 Využití multiplexové technologie xMAP v prenatální a novorozenecké diagnostice

Martin Pešta

Multiplexová technologie xMAP (a její varianta xTAG) je rychle se rozvíjející laboratorní metoda, která umožňuje simultánní stanovení, kvalitativní i kvantitativní, biologických molekul v klinických materiálech. Na přístroji Luminex s fluorescenční detekcí je možné stanovovat širokou škálu biomarkerů – proteinů i nukleových kyselin. Tato metoda si našla využití v biomedicínském výzkumu v mnoha aplikacích a postupně se dostává i do klinické diagnostiky.

Prenatální diagnostika cystické fibrózy

Jedním z častých genetických onemocnění diagnostikovaných u novorozenců je cystická fibróza. Jedná se o monogenně dědičné onemocnění, u kterého se provádí cílené prenatální vyšetření – prenatální diagnostika.

- V ČR incidence cca 1:2500-3500 dětí
- Autozomálně recesivní (AR) – onemocnění vzniká při poškození obou alel CFTR genu
- CF je způsoben mutacemi v genu pro transmembránový přenašeč (CFTR) → porucha transportu chloridových a sodíkových iontů buněčnou membránou

Včasná diagnostika cystické fibrózy je považována za příznivý prognostický faktor.

Prenatální diagnostika cystické fibrózy, vyšetření genu CFTR u plodu, je nabízeno v České republice všem rodinám s 25procentním rizikem cystické fibrózy. Prenatální diagnostika cystické fibrózy se provádí např. v rodinách, kde rodičům se již narodil potomek s cystickou fibrózou a byly identifikovány obě mutace. Dále se prenatální diagnostika provádí u párů, kde je jeden partner nemocný cystickou fibrózou. Žena podstoupí ve 12. -13. týdnu těhotenství odběr buněk z části placenty, tzv. choriových klků, nebo v 16. - 17. týdnu těhotenství amniocentézu, což je odběr malého množství plodové vody obsahující buňky plodu. Z těchto buněk se izoluje DNA plodu.

Pro nalezení mutací genu CFTR je v současnosti dostupná řada testů. Jednou z možností je stanovení pomocí multiplexové technologie xMAP.

Detekované mutace genu CFTR (xTAG® Cystic Fibrosis Kit, Luminex Corp., USA)

V současnosti existují 3 varianty testu, lišící se počtem mutací s nízkou prevalencí:

- xTAG Cystic Fibrosis 39 kit v2
- xTAG Cystic Fibrosis 60 kit v2
- xTAG Cystic Fibrosis 71 kit v2

Nejčastější mutace českých pacientů: F508 71,57%, CFTRdel2,3 4,64%, G551D 4,03%

Testy umožňují současnou detekci 39-71 mutací genu CFTR (dle typu testu), viz Obrázek 15. Testy disponují značkou CE a označením For In Vitro Diagnostic Use.

xTAG® Cystic Fibrosis (CFTR) 39 kit v2*

ΔF508	A455E	R1162X	1078delT	1898+5G>T
ΔI507	1717-1G>A	3659delC	394delTT	2183AA>G
G542X	R560T	3849+10kbC>T	Y122X	2307insA
G85E	R553X	W1282X	R347H	Y1092X
R117H	G551D	N1303K	V520F	M1101K
621+1G>T	1898+1G>A	5/7/9T	A559T	S1255X
711+1G>T	2184delA	F508C	S549N	3876delA
R334W	2789+5G>A	I507V	S549R	3905insT
R347P	3120+1G>A	I506V		

ACMG recommended mutations¹
¹ Genet Med. 2004 Sep-Oct; 6(5):387-91.

+

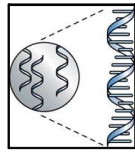
xTAG® Cystic Fibrosis (CFTR) 60 Kit v2*

CFTR del2,3	2055del9>A
W1089X	S1196X
1677delTA	935delA
D1152H	2143delT
R1158X	K710X
G178R	G330X
3791delC	Q890X
L206W	R1066C
E60X	3199del6
R75X	406-1G>A
	Q493X

Broad Ethnic Coverage

16 most common additional mutations recommended mutations covered
Accuracy of 100% for genotyping information used for carrier and newborn screening

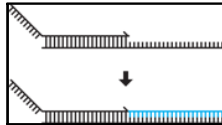
Obrázek 15. Mutace genu CFTR, které je možno detekovat soupravou xTAG® Cystic Fibrosis Kit, Luminex Corp., USA (zdroj: www.luminexcorp.com).



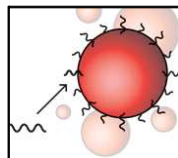
1. Extrakce a purifikace genomové DNA



2. Vytvoření kopií DNA genu CFTR pomocí multiplexové PCR reakce



3. Alelově-specifický „primer extension“: Amplifikovaná DNA je smíchána se specifickými krátkými sekvencemi DNA (TAG primery), které jsou specifické pro místo každé mutace a zároveň ke kuličce příslušné barvy. Jestliže je na amplifikované DNA komplementární sekvence ke konkrétnímu primeru, dojde navázání TAG primeru na DNA a primer bude polymerací prodloužen. Během této extenze je do primeru zabudováno barvivo, které bude detekované přístrojem.

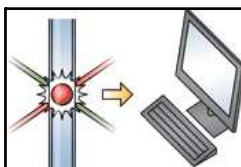


4. Hybridizace mikrokuliček. Barevně kódovaných kuličky jsou přidány pro identifikaci označených primerů. Ke každé kuličce příslušné barvy je připojena anti-TAG sekvence specifická pro jednu sadu TAG primerů.

Luminexové kuličky s navázanou sekvencí DNA (anti-TAG sekvence) specifické k příslušnému TAG primeru, naváží přítomné primery, které jsou součástí úseku amplifikované DNA. Kuličky jedné barvy váží TAG primery specifické pro jednu konkrétní mutaci



5. Přidání reportérově molekuly. Reporterovou sloučeninou je konjugát Streptavidinu a R-Phycoerythrinu.



6. Analýza a sběr dat na přístroji Luminex:

Vzorky (kuličky s hybridizovanými sekvencemi) jsou nasávány do kapiláry přístroje, kde jsou analyzovány lasery. Lasery určí barvu kuličky (analyzovanou mutaci) a přítomnost či nepřítomnost označené cíle. Analýza dat určení, zda je DNA wild-typem a / nebo s mutantními alelami.

Obrázek 16. Princip stanovení genových mutací, použitý v testech xTAG Cystic Fibrosis (zdroj: www.luminexcorp.com)

Novorozenecký screening kongenitální hypotyreózy, kongenitální adrenální hyperplazie a cystické fibrózy (fenotypicky)– Neoplex4

Společnost Luminex vyvíjí test Neoplex4 pro klinické využití. Vyšetření bude provádět ze suché kapky krve na novorozenecké screeningové destičce. Test umožní současné stanovení

- [TSH](#) (tyreotropin) CH > 3.0 mU/L
- [T4](#) (tyroxin) CH < 11 mmol/L
- [17-OHP](#) (17 α -hydroxyprogesteron) CAH >90 nmol/l
- celkový IRT (imunoreaktivní trypsinogen) CF: koncentrace IRT \geq 99,0 percentil

Celkový IRT pomáhá detekovat cystickou fibrózu „fenotypicky“. Trypsinogen je produktem buněk acinů pankreatu a je transportován do tenkého střeva. U jedinců s cystickou fibrózou, může hlen v pankreatických cestách vedoucích do tenkého střeva zabraňovat vylučování trypsinogenu do střeva a tím následně zpomalovat štěpení proteinů v potravě. Zároveň se trypsinogen dostává do krve, kde je následně detekován. Stanovení IRT je poměrně senzitivní, ale málo specifický pro CF a zatížený určitou variabilitou s poklesem v čase. U jedinců, u kterých je hladina IRT zvýšená, následuje testování na nejčastější mutace CFTR genu. Pokud je nalezena pouze 1 mutace, je nutné potním testem objasnit, zda se jedná o zdravého nosiče nebo pacienta s CF, která je způsobena vzácnější a tedy nevyšetřenou mutací. Když jsou nalezeny 2 mutace, je diagnóza CF velmi pravděpodobná a dítě je voláno k potnímu testu (ten vyloučí případnou záměnu) a k zahájení léčby.

Jestliže je hladina IRT velmi vysoká a mutace CFTR genu není nalezena, provádí se opakovaný odběr k vyšetření IRT - takzvaný IRT recall -a při opětovně zjištěné vyšší hladině je dítě rovněž zváno k potnímu testu.

Předmětem studií je v současnosti význam variant IRT ve vztahu k onemocněním slinivky břišní. Ukazuje se, že z variant IRT1 a IRT2 má větší souvislost s onemocněními slinivky (včetně cystické fibrózy) varianta IRT2. Autoři publikace z roku 2010, Barbara A. Lindau-Shepard and Kenneth A. Pass, pro stanovení použili dvě sady Luminexových kuliček s navázanými protilátkami proti IRT1 a IRT2. Touto metodou se autorům podařilo zachytit nosiče mutací CF genu specifitěji než standardním testem, detekovali menší počet falešně pozitivních vzorků.

Vybraná literatura

Lindau-Shepard BA, Pass KA. Newborn Screening for Cystic Fibrosis by Use of a Multiplex Immunoassay. Clin Chem 56:3, 445–450 (2010)

3. MENOPAUZA

Marie Karlíková

Proč ze všech živočišných druhů pouze ženy přežívají dlouho po skončení fertility a nástupu menopauzy? V roce 1957 přišel G.C. Williams s teorií „předčasného ukončení“ reprodukce, na kterou v roce 1997 navázala K. Hawkes „babičkovskou teorií“. Je to evoluční vysvětlení menopauzy, které podporuje myšlenku, že zdatnost populace je maximalizována, pokud žena přestane rodit a pomáhá s péčí o vnoučata jako babička.

Každý člověk má dvě babičky, takže na světě musí být dvakrát víc babiček než lidí.

M. Horníček

3.1 Hormonální změny v menopauze

Podle klasifikace WHO z r. 1981 je **menopauza** definována jako poslední menstruace - trvalé vymizení menstruace v důsledku ztráty folikulární aktivity. Období předcházející menopauze se označuje jako **premenopauza**.

Postmenopauza – období vyhaslé ovariální funkce začínající 1 rok po menopauze (tj. navazující na perimenopauzu). Je charakterizována trvale zvýšenými hladinami folikuly stimulujícího hormonu (**FSH**) a minimální produkcí estradiolu (**E2**) v ovariu.

Perimenopauza (klimakterium) – období „bezprostředně“ před menopauzou a do jednoho roku po menopauze. Fyziologicky se vyskytuje mezi 45. a 60. rokem věku, nástup tohoto procesu před 40. rokem označujeme jako předčasné ovariální selhání.

Období	Klinický obraz	Laboratorní obraz	
		Gonadotropiny	Estradiol
Premenopauza	<ul style="list-style-type: none"> ■ pravidelná menstruace ■ polymenorea, hypermenorea, menoragie 	normální hodnoty	normální hodnoty
Perimenopauza	<ul style="list-style-type: none"> ■ nepravidelná menstruace ■ oligomenorea, hypomenorea, amenorea (reverzibilní insuficience ovaria) 	zvýšené hodnoty (statisticky významné)	snižené hodnoty (statisticky významné)
Postmenopauza	<ul style="list-style-type: none"> ■ trvalá amenorea (ireverzibilní insuficience ovaria) 	FSH nad 40 IU/l	pod 0,1 nmol/l

Obrázek 17. Hlavní klinické rysy a základní hormonální hladiny v premenopauze, perimenopauze a postmenopauze (podle doporučení Společnosti pro otázky menopauzy ČSL JEP). Převzato z www.zdn.cz. FSH = folikuly stimulující hormon).

Menopauza je zásadní změna endokrinních regulací, která postihne každou ženu, pokud se dožije příslušného věku. Přejít od normální funkce hypotalamo-hypofyzo-ovariální osy do vyhasnutí sekrece přirozených ženských hormonů – gestagenů a [estrogenů](#) – se označuje jako klimakterium. Nástup klimakteria se věkově značně liší. Výrazně zde působí vlivy rasové a klimatické – pohlavní vývoj od puberty po klimakterium je obvykle rychlejší v tropickém a subtropickém pásmu. I v rámci stávající populace žijící v určitých klimatických podmínkách je nástup klimakteria individuálně značně odlišný. Za předčasné se klimakterium označuje podle různých autorů ve věku 40-45 let. Předčasné klimakterium nastupuje obvykle za patologických podmínek, např. při různých autoimunitních chorobách endokrinního systému, ale i závažných celkových onemocněních. Genetické faktory hrají nesporně úlohu, ale podrobnější data na větších souborech nebyla dosud publikována.

V klimakteriu se snižuje funkční kapacita ovariálních endokrinních buněk a na to reaguje hypotalamo-hypofyzární systém zvýšenou sekrecí gonadotropinů - luteotropního hormonu ([LH](#)) a folikuly stimulujícího hormonu ([FSH](#)). Tato stimulace po nějakou dobu udržuje sekreční aktivitu ovarií, ale ta po čase klesá, takže se snižuje produkce gestagenů a estrogenů. Zvýšená hladina gonadotropinů přetrvává ještě delší dobu po poklesu těchto hormonů.

Fyziologie

V souvislosti s reprodukčním stárnutím se zmenšuje počet folikulů v ovariu a jejich počet je nejpravděpodobnější faktor určující ukončení ovariální činnosti. Snižuje se produkce ovariálních steroidů a [inhibinu B](#) a zpětnově se zvyšuje sekrece hypotalamických a hypofyzárních hormonů. V důsledku poklesu hladin inhibinu B dochází ke **zvýšení hladiny FSH, což bývá první laboratorní známkou perimenopauzy**. S dalším snižováním počtu folikulů se snižuje tvorba [estradiolu](#) a [progesteronu](#). Zdrojem estrogenů u postmenopauzálních žen je periferní konverze androgenů, [androstendion](#) se přeměňuje na estron, který je nyní dominantním estrogenem. **Laboratorním kritériem klimakteria je sérová hladina FSH > 40 IU/l, estradiolu < 0,1 nmol/l (20µg/l) a inhibinu B < 72 IU/l (2 ng/l) (Živný 2004).**

- reprodukční stárnutí → úbytek folikulů, útlum funkce ovarií,
- hormonální změny hypotalamo-hypofyzo-ovariální osy
 - Úbytek folikulů → klesá inhibin B → vzestup FSH
 - Hypotalamus produkuje pomaleji GnRH
 - Zpomalení a snížení produkce ženských pohlavních hormonů: estrogenů a progesteronu
 - Klesají steroidy ([testosteron](#), [DHEAS](#), ..)
 - Klesá [SHBG](#).....→ lehce stoupají volné androgeny
 - Androstendion konvertován na estron

Doporučená vyšetření před a v průběhu hormonální substituce:

- gynekologické, včetně onkologické cytologie hrdla děložního (1× ročně)
- ultrasonografie (výška endometria) – (1× ročně)
- mamografie (1× ročně)
- závažnost akutního klimakterického syndromu (Kuppermanův index event. jiné indexy)
- krevní tlak
- hmotnost
- **v indikovaných případech (zejména u rizikových pacientek) vyšetření hormonálního stavu reprodukčního systému, kostní denzity, biochemických markerů kostního metabolismu, jaterních testů, lipidového profilu, glykemie**

Důsledky

Rozsáhlá symptomatologie klimakteria je dělená na syndromy **vegetativní** (poruchy vazomotorické, psychické), **organické** (změny kožní, urogenitální, tělesné hmotnosti) a **metabolické** (ovlivnění lipidového spektra, aterosklerózy, osteoporózy). Vegetativní příznaky snižují kvalitu života, ale neohrožují významně zdraví ženy. Jsou též označovány jako akutní nebo klimakterický syndrom. Jejich nástup je individuální a není úměrný hladinám estrogenů. Organické (sub- akutní) a etabolické (chronické) změny mohou již vést k poškození zdraví. Označují se též jako estrogen-deficitní metabolický syndrom. Terapie klimakterického syndromu může být hormonální nebo nehormonální. Prevence dlouhodobých organických změn je však prokázána pouze u hormonální substituční terapie.

- Úbytek kostní hmoty - osteoporóza
- Kardiovaskulární změny - vzestup cévních a srdečních onemocnění
- Urogenitální změny - zvýšení rizika infekce a zánětů
- Změna procesu ukládání tuků – obezita, vzestup hladin cholesterolu
- Onemocnění CNS

Hormonální substituční terapie

Pro hormonální substituční terapii (HST) se používají všechny tři skupiny steroidních pohlavních hormonů – estrogeny, gestageny a androgeny. K hormonální substituci můžeme dále zařadit tibolon, selektivní modulátory estrogenních receptorů (SERMs – tamoxifen, raloxifen), dehydroepiandrosteron (DHEA) a tzv. alternativní terapie. Léčba jednou skupinou pohlavních hormonů se nazývá monoterapii, při užívání více skupin jde o léčbu kombinovanou. Cílem HST je v postmenopauze udržet přibližně stejnou koncentraci ženských pohlavních hormonů v plasmě jako je ve fertilním věku.

Estrogeny

Estrogeny používané v dnešních přípravcích HST lze rozdělit do dvou velkých skupin, přirozené a syntetické.

Mezi tzv. přirozené estrogeny patří estradiol, estron, estriol, jejich konjugované deriváty a konjugované ekvinní estrogeny (CEE - conjugated equine estrogens). Estradiol a estron jsou lépe absorbovány po podání konjugovaných či mikronizovaných forem.

Hlavními zástupci syntetických estrogenů jsou mestranol a etinylestradiol. Jsou využívány výjimečně a podání etinylestradiolu výrazně zvyšuje aktivitu jaterních enzymů a produkci proteinů v játrech ve srovnání s mikronizovaným estradiolem.

Monoterapie estrogeny se podává zásadně ženám po hysterektomii; ženám se zdravou dělohou se podává vždy kombinovaná terapie.

Gestageny (progestiny)

Pro kombinovanou substituční léčbu se využívá řada gestagenů. Jediným přirozeným gestagenem je progesteron, využívá se jeho mikronizované formy. Všechny ostatní užívané gestageny - noretisteron, lynesterol, levonorgestrel, desogestrel, gestoden, norgestimat, dienogest - jsou látky syntetické.

Androgeny

Exogenní androgeny mohou být podávány v ojedinělých případech, kdy jsou kontraindikovány estrogeny nebo při výrazných vedlejších a nežádoucích účincích estrogenů a pro zvýšení libida. Používá se testosteron, testosteron enanthát a dehydroepiandrosteron.

Tibolon

Tibolon je syntetický steroid podobný 19- nortestosteronu, který se metabolizuje na 3 metabolity, které mají rozdílnou afinitu k hormonálním receptorům a v důsledku toho má estrogení, progestogenní a slabou androgení aktivitu. Tibolon příznivě ovlivňuje klimakterický syndrom, kostní denzitu, zvyšuje libido, neindukuje proliferaci endometria a zvýšení denzity prsní žlázy v mamografickém obraze.

3.2 Poruchy štítné žlázy v menopauze

Václav Zamrazil

Hormony štítné žlázy, kromě svých nesporných a zásadně nejdůležitějších vlivů na metabolismus organismu, hrají mechanismem zpětných vazeb důležitou roli pro regulaci hypotalamo-hypofyzárního systému včetně hypotalamo-hypofyzo-ovariální osy. To má nesporné klinické důsledky. Existují dlouhodobé klinické zkušenosti týkající se vlivu menopauzy na výskyt a klinický obraz většiny tyreopatií.

Menopauza může působit na tyreoidální funkci i na aktivitu autoimunitních chorob, které jsou příčinou většiny tyreopatií u nás:

1. změna sekrece hypofyzárních hormonů

Vzestup sekrece gonadotropinů ([FSH](#) a [LH](#)) může ovlivnit funkci štítné žlázy, protože mají společnou alfa podjednotku s tyreotropním hormonem hypofýzy ([TSH](#)):

- estrogény a gestageny se váží na nukleární receptory buněk podobně jako hormony štítné žlázy. Jejich poklesem se proto může měnit i rovnováha vazeb hormonů štítné žlázy.
- změny hypofyzárních hormonů mohou působit druhotnými metabolickými vlivy (např. na imunitní procesy, kostní metabolismus apod.).

2. vliv na hladiny tyreoidálních hormonů a TSH

- zatím nebyl prokázán vliv menopauzy na klinicky relevantní změny hladin tyroxinu ([T4](#)) a trijodtyroninu ([T3](#)) jak celkových, tak jejich volné frakce (fT4 a fT3).
- vliv věku na hodnoty TSH byl opakovaně prokázán, ale není jasné, zda jde o vliv obecného procesu stárnutí (Boucai et al. 2011) (Tabulka 23)
- Existuje vliv menopauzy na sekreci TSH stimulovanou hypotalamickým tyreostimulačním hormonem (TRH), ale nebyl podrobněji sledován na větších souborech.

Tabulka 23. Změny hodnot TSH vlivem věku. (Převzato z Boucai et al. 2011, str. 7)

Věk (roky)	2,5 percentil	median	97,5 percentil
13 – 19	0.42	1.40	4.30
20 – 50	0.49	1.50	4.20
Nad 80	0.44	1.90	6.30

V klinické praxi je důležitý vliv klimakteria a menopauzy na tyreoidální autoimunitní procesy. Je to dáno tím, že chronická autoimunitní tyreoiditida patří k častým onemocněním u žen (3-5 % populace), nezanedbatelný není ani výskyt autoimunitní tyreotoxikózy Graves-Basedowova typu (asi 0,5 % ženské populace).

Vliv steroidních hormonů na imunitní systém je nesporný. Svědčí pro to následující fakta:

1. v experimentu estrogeny mají stimulační vliv na endokrinní systém, gestageny (androgeny) ho spíše tlumí
2. změny hladiny sexagenů (puberta, gravidita, menopauza) jsou spojeny se změnami incidence autoimunitních tyreopatií, která výrazně stoupá v pubertě a v menopauze (gravidita je spojena se zvýšenou imunotolerancí, takže aktivita autoimunitních procesů během ní klesá, ale po porodu výrazně stoupne).

Řada epidemiologických studií potvrzuje, že výskyt chronické autoimunitní tyreoiditidy dosahuje u žen v menopauze 10-20 % v populacích, kde výskyt v mladším věku je 3-5%.

Faktory, které mohou ovlivnit vliv menopauzy na incidenci a prevalenci tyreopatií:

1. genetické vlivy.

Jsou patrné rozdíly mezi jednotlivými rasami, např. v USA nejenom mezi bělošskou a černošskou populací, ale odlišný je výskyt i u tzv. hispánské populace.

2. saturace jodem a její změny

Tomuto faktoru kupodivu nebyly věnovány žádné podrobnější epidemiologické studie, i když klinické zkušenosti pro něj svědčí.

3. další faktory

Uvažuje se o vlivu zevní radiace, saturace selenem, obsahu strumigenů v potravě a dalších možných faktorů. Podrobnější údaje nejsou k dispozici.

Epidemiologické studie prováděné v České republice prokázaly nesporný nárůst positivity tyreoidálních protilátek a manifestních tyreopatií v menopauze (Tabulka 24).

Tabulka 24. Výskyt tyreopatií v menopauze v České Republice (% populace)

<u>Struma</u>	do 10 % (výrazná závislost na zásobování jodem)
<u>Autoimunitní tyreoiditida</u>	10-15 % (dle antiTPO protilátek a sonografického obrazu)
<u>Hypotyreoza</u>	
- manifestní	3-5 %
- subklinická	5-7 %
<u>Hypotyreoza (tyreotoxikóza)</u>	
- manifestní	0,3 – 0,5 %
- subklinická	0,5 – 1,0 %

Vliv menopauzy na výskyt nejdůležitějších tyreopatií

(Pozn.: Tento vliv nelze exaktně odlišit vliv věku obecně od vlivu hormonálních změn v menopauze)

1. struma

V oblastech s endemickým nedostatkem jodu je vliv věku na výskyt strumy opakovaně prokázán. U nás je to patrné u starších osob, které vyrůstaly v prostředí nedostatku jodu. Vliv věku na výskyt strumy při optimální saturaci jodem je nesporně méně významný.

2. hypertyreóza (tyreotoxikóza)

Autoimunitní formy (Graves-Basedowova tyreotoxikóza) se vyskytují v každém věku, některé práce svědčí pro zvýšenou incidenci v pubertě a v klimakteriu

3. hypotyreóza

Výskyt obecně s věkem stoupá, klimakterium a menopauza vedou k výraznému zvýšení incidence pravděpodobně vlivem na autoimunitní procesy.

4. chronické autoimunitní tyreoditidy

Nesporný nárůst je patrný v průběhu stárnutí, u žen v klimakteriu a v menopauze incidence výrazně stoupá. Při průzkumu v ČR jsme zjistili vzrůst protilátek proti tyreoidální peroxidáze (TPO) z 5% u mladších žen na 12,5 % u žen v klimakteriu.

5. nádory štítné žlázy

Různé typy tyreoidálních nádorů se chovají odlišně, v průměru lze říci, že vliv věku je nesporný:

- s věkem stoupá incidence dediferencovaných nádorů
- věk zhoršuje prognózu onemocnění, např. papilární karcinom u dětí a mladistvých, pokud je správně léčen, prakticky nemění délku přežití, ale ve vyšším věku je spojen se zvýšenou mortalitou. Může to souviset i s tím, že vlivem věku klesá schopnost nádorových buněk vychytávat radiojod.

Vliv věku je tedy nesporný, ale nárůst jeho významu je spíše plynulý bez prudších změn v menopauze.

Vliv menopauzy na klinický obraz tyreopatií

(Ani zde není jasné, do jaké míry jde o komplexní vliv stárnutí nebo o vliv menopauzy.)

1. **u hypertyreozy** jsou obvykle méně výrazné celkové příznaky jako překotnost, hyperaktivita, termofobie. V popředí obrazu jsou obvykle oběhové poruchy (arytmie, kardiální selhání), chuť k jídlu může být i snižená, může se vyskytovat apatie. Nápadné jsou atrofie kořenového svalstva.
2. **u hypotyreozy** převažuje termofobie, apatie, spavost, hmotnost se obvykle výrazně nemění, změny kůže a podkoží bývají vyjádřeny, nápadné jsou otoky víček.
3. **autoimunitní tyreoiditidy**. Obecně klesá výskyt tyreoiditid se strumou, převažují atrofické formy, kdy hlavním projevem je hypotyreóza.
4. **u nádorů** stoupá se zvyšující se biologickou malignitou, výskyt metastáz, zvyšuje se riziko lokálního růstu na krku. Léčba radiojodem je méně účinná.
5. **obecně stoupá výskyt tzv. subklinických tyreopatií**. Definici subklinické tyreopatie podává tabulka 25. Je z ní patrné, že nerozhoduje klinický obraz, ale poměr normální hladiny tyroxinu a změněné hladiny TSH. Tyto formy jsou častější než klinicky manifestní, jejich klinický význam a léčba zůstávají předmětem diskuzí.

Tabulka 25. Subklinické tyreopatie

- stavy, kdy hodnoty tyreoidálních hormonů jsou v normě a TSH je změněn (klinický obraz není rozhodující!)			
T4/T3	TSH		
NORM	VYŠŠÍ	5,0 mIU/l	subklinická hypotyreóza
NORM	NIŽŠÍ	0,35 mIU/l	subklinická hypertyreóza

Vliv menopauzy na osteoporózu u tyreopatií

Osteoporóza je důležitým problémem zejména u zvýšené funkce štítné žlázy (i subklinické). U mladších žen je manifestní tyreotoxikóza spojena s nesporným rizikem osteoporózy, avšak význam subklinické hypertyreózy není dosud bezpečně zhodnocen. Je zřejmé, že v období periklimakteria a menopauzy je i subklinická hypertyreóza rizikovým faktorem vzniku osteoporózy (Tabulka 26).

Tabulka 26. Vliv menopauzy na osteoporózu u tyreopatií

1. v časných obdobích po klimakteriu (do cca 5 let) dochází k výraznému poklesu kostní hmoty
2. tento pokles není signifikantně ovlivněn nedostatkem tyreoidálních hormonů
3. hypertyreoz (i subklinická!) vede k výraznému urychlení a prohloubení úbytku kostní hmoty
4. tento úbytek nelze plně blokovat ani podáváním estrogenů ani klasickými léčebnými postupy. **Jedinou možností je úprava hodnot T4 a TSH!**

Závěry

- Postupné vyhasínání ovariální funkce u žen – klimakterium – a následný stav snížené hladiny estrogenů a gestagenů – menopauza – je spojena s řadou dalších endokrinních a metabolických změn.
- Primární reakcí je zvýšená sekrece hypofyzárních gonadotropinů (FSH, LH).
- Nástup a průběh menopauzy je ovlivněn řadou faktorů, např. genetickými vlivy, saturací jodem, stopovými prvky a dalšími zevními vlivy (radiace?).
- Globální endokrinní změny vedou druhotně ke změnám aktivity imunitního systému, ke zvýšení rizika osteoporózy a ovlivňují procesy stárnutí.
- V menopauze stoupá výskyt strumy a zejména výskyt chronické autoimunitní tyreoiditidy.
- Mění se rovněž výskyt, distribuce a klinický obraz nádorů štítné žlázy.
- Obecně jsou klinické projevy porušené funkce štítné žlázy méně výrazné, otázkou je, zda se na tom podílí více obecný proces stárnutí nebo změny sekrece gonadotropinů a ovariálních hormonů.

Vybraná literatura

1. Baqi L, Payer J, Killinger Z et al. The level of TSH appeared favourable in maintaining bone mineral density in postmenopausal women. *Endocr Regul.* 2010 Jan;44(1):9-15.
2. Boucai L, Hollowell JG, Surks MI. An approach for development of age-, gender-, and ethnicity-specific thyrotropin reference limits. *Thyroid.* 2011 Jan;21(1):5-11.
3. Mazziotti G, Porcelli T, Patelli I et al. Serum TSH values and risk of vertebral fractures in euthyroid postmenopausal women with low bone mineral density. *Bone.* 2010 Mar;46(3):747-51.
4. Silverberg A., Santoro N.: Mechanism of menopause and menopausal transition. s.3021-3032 In: *Endocrinology* 5. vyd. De Groot LJ, Jameson JL (eds), Elsevier, Philadelphia 2006
5. Živný J. Stárnutí ženy a hormonální substituční terapie. *Interní medicína pro praxi*, 8/2004, 403-409.

4. REJSTŘÍK BIOMARKERŮ

17 α –hydroxyprogesteron (17 - OHP)

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

17 α -hydroxyprogesteron (17-OHP) je steroidní hormon ze skupiny progestagenů a meziprodukt syntézy glukokortikoidních a pohlavních hormonů (estrogenů a androgenů). Stanovení 17-OHP má význam v **diagnostice a sledování vrozeného a získaného deficitu enzymu 21-hydroxylázy (CYP21)** a dále v **diferenciální diagnostice onemocnění nadledvin, ženské neplodnosti a virilizačního syndromu**.

Struktura

Systematický název: 17-hydroxy-4-pregnen-3,2-dion

Sumární vzorec: C₂₁H₃₀O₃

Strukturní vzorec: obr. 1

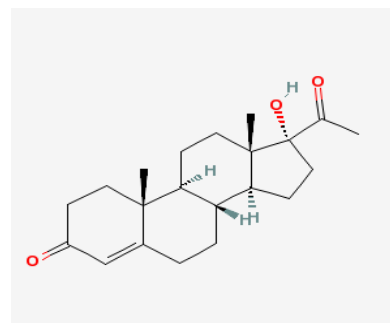
Molekulová hmotnost: 330 Da

Tvorba, metabolismus, funkce

17-OHP je syntetizován z cholesterolu sérií enzymatických reakcí (obr. 2). Prvním krokem v tomto procesu je přeměna cholesterolu na pregnenolon, která je stimulována adrenokortikotropním hormonem hypofýzy (ACTH). Pregnenolon je následně přeměněn na progesteron nebo 17-hydroxy-pregnenolon, prekurzory 17-OHP. 17-OHP pak může být dále přeměněn v nadledvinách až na kortizol, či v nadledvinách a ovariích na androstendion.

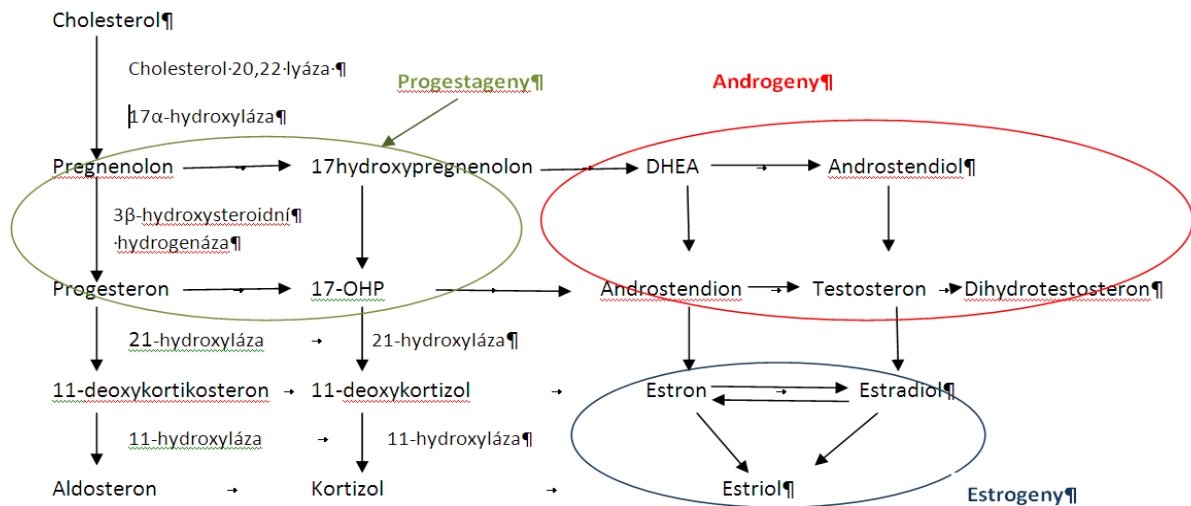
17-OHP se nachází v krvi ve volném stavu nebo se váže na vazebné bílkoviny albumin nebo transkortin. Je metabolizován v játrech a vylučován močí jako pregnantriol.

17-OHP je prekurzor kortizolu. Kortizol je hormon nadledvin podporující štěpení bílkovin, glukózy a lipidů, udržující krevní tlak a regulující imunitní systém. Produkci kortizolu stimuluje ACTH. Hladiny kortizolu v krvi rostou při nemocech a ve stresu. Pro dokončení tvorby kortizolu jsou nezbytné některé enzymy; když jeden nebo několik z nich chybí nebo nejsou funkční, netvoří se dostatečné množství kortizolu a jeho prekurzory, jako je 17-OHP, se hromadí v krvi. Nadledviny používají část nadbytečného 17-OHP k tvorbě většího množství



Obr. 1: Strukturní vzorec 17 α -hydroxyprogesteronu (zdroj: wikipedia.com)

androgenů a jejich přebytek může působit virilizaci, tj. rozvoj mužských pohlavních znaků u chlapců i dívek. Tyto vrozené enzymové nedostatky a následný nadbytek androgenů způsobují skupinu poruch nazývaných kongenitální adrenální hyperplasie (CAH). Nejčastější příčinou CAH (asi 90 % případů) je nedostatek enzymu 21-hydroxylázy (CYP21).



Obr. 2 Schéma syntézy steroidů. Steroidy jsou podle účinků rozděleny na progestageny, androgeny, estrogeny, glukokortikoidy a mineralokortikoidy (poslední dvě skupiny zde nejsou vyznačeny s ohledem na přehlednost). 17-OHP = 17-hydroxyprogesteron, DHEA = dehydroepiandrosteron.

Biologická variabilita

Hladiny 17-OHP jsou závislé na věku a pohlaví. Nejvyšší úrovně dosahují během fetálního období a bezprostředně po narození. Během prvních týdnů života hladina 17-OHP v séru poklesne přibližně padesátkrát ve srovnání s hodnotami z pupečnickové krve. Hladiny 17-OHP u obou pohlaví pak zůstávají v dětství nízké a postupně se zvyšují během puberty.

Sérové hladiny 17-OHP vykazují diurnální variace závislé na stimulaci sekrece ACTH s maximem v ranních hodinách. Hladina hormonu kolísá i v různých fázích menstruačního cyklu.

Biologický poločas

10 dní

Indikace k vyšetření

- Součást novorozeneckého screeningu
- Chlapci – předčasný sexuální vývoj

- Ženy – oligomenorea, virilizace, neplodnost
- Monitorování CAH

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou, u premenopauzálních žen ve folikulární fázi menstruačního cyklu, u novorozenců 4.-7., event. 2. den po narození
- vliv materiálu: není znám
- vliv léků: terapie spironolaktonem musí být přerušena minimálně 3 týdny před stanovením 17-OHP
- další vlivy: nejsou známy

Referenční interval

Typické hladiny 17-OHP v séru jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Tab. 1 Hladiny 17-OHP u novorozenců (luminometrická imunoanalýza, 17-OHP Immunotech)

Váhová kategorie	N	Cut-off (ng/ml)
>2 500 g	37 030	15
2 000-2 500 g	2 642	25
1 500-2 500 g	837	30
<1 500 g	418	35

Tab. 2 Hladiny 17-OHP u dospělých (RIA 17α-hydroxyprogesteron, Immunotech)

	Referenční interval (ng/ml)
Muži	0,5 – 2,4
Ženy	
• folikulární fáze	0,15 – 1,1
• luteální fáze	0,7 – 3,1
• po menopauze	0,08 – 1,3

Rovnice pro převody jednotek: 1 nmol/l = 3,026 ng/ml.

Interpretace výsledků

Výsledky 17-OHP nebývají interpretovány samostatně, ale současně s výsledky stanovení dalších androgenních hormonů jako androstendion a/nebo testosteron.

Tabulka 3 shrnuje význam zvýšených hodnot 17-OHP.

Tab. 3 Interpretace výsledků 17-OHP

Zvýšené hodnoty
Kongenitální adrenální hyperplazie (CAH)
Non-klasická kongenitální adrenální hyperplazie (pozdní nástup CAH)
Jiné formy adrenální hyperplazie
Hirsutismus
Neplodnost u žen

Literatura

1. Burtis CA, Ashwood, ER, Bruns, DE: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier Inc., 2006, p. 2042.
2. Lashansky G., Saenger P., Fishman K., Gautier T., Mayes D., Berg G., Di Martino-Nardi J., Reiter E.: Normative data for adrenal steroidogenesis in a healthy pediatric population: age and sex-related changes after adrenocorticotropin stimulation, J. Clin. Endocrinol. Metab., 1991, 73, 674-686.
3. Miller WL: Molecular biology of steroid hormone synthesis, Endocrin. Rev., 1988, 9, 295-318.
4. Petersen KE, Christensen T: 17-hydroxyprogesterone in normal children and congenital adrenal hyperplasia, Acta Pediatr. Scand., 1979, 68, 205-211.
5. Schoneshofer M, Wagner GG: Sex differences in corticosteroids in man, J Clin. Endocrinol. Metab., 1977, 45, 814-817.
6. Sippel WG., Dorr H., Bidlingmaier F., Knorr D.: Plasma levels of 17-hydroxyprogesterone, cortisol, and cortisone during infancy and childhood, Pediatr. Res., 1980, 14, 39-46.
7. Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.

Aktiviny

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

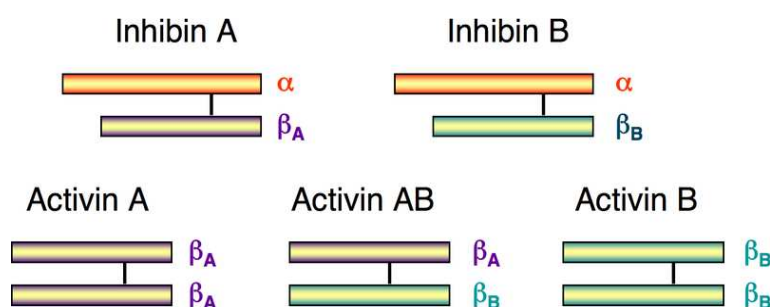
Základní charakteristika

Aktiviny jsou glykoproteiny vylučované specializovanými buňkami varlat u mužů a ovarií u žen. Podporují sekreci folikulostimulačního hormonu (FSH) v hypofýze a spolu s inhibiny hrají důležitou roli v rozvoji a regulaci reprodukčního statusu mužů i žen. V současné době se nevyžívají v rutinní klinické diagnostice, mají však nezastupitelné místo ve výzkumných projektech zaměřených na pochopení souvislostí vývoje a fungování reprodukčních a dalších mechanismů v lidském těle.

Struktura

Aktiviny patří do skupiny strukturálně podobných látek transformujícího růstového faktoru β (TGF- β). Tato skupina zahrnuje kromě TGF- β ještě Antimülleriánský hormon (AMH), inhibin A a inhibin B. Aktiviny jsou dimerní polypeptidy složené ze dvou podjednotek - α -podjednotky spojené disulfidickým můstkem s podjednotkou β (obr. 3). Pouze tento heterodimer vykazuje biologickou aktivitu. V krevním oběhu se vyskytují také volné α -podjednotky a vysokomolekulární formy vznikající spojením několika α -podjednotek. Biologickou aktivitu však nevykazují.

Molekulová hmotnost: 28 kDa



Obr. 3 Grafické znázornění struktury aktivinů a inhibinů (zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

Aktiviny jsou syntetizovány u mužů v Sertoliho buňkách varlat, u žen v granulózových buňkách ovarií.

Aktiviny jsou součástí osy hypotalamus – hypofýza – gonády. Díky působení aktivinů se mimo jiné zvyšuje biosyntéza a sekrece FSH, čímž se spolu s inhibiny podílí na kontrole a rozvoji reprodukčních funkcí u mužů i žen.

Tab. 4 přehledně ukazuje rozdíly ve složení jednotlivých aktivinů a inhibinů.

Tab. 4 Struktura aktivinů a inhibinů

Třída	Analyt	Podjednotka		Funkce
Inhibiny	Inhibin A	α	βA	Inhibují produkci FSH
	Inhibin B	α	βB	
Aktiviny	Aktivin A	βA	βA	Stimulují produkci FSH
	Aktivin AB	βA	βB	
	Aktivin B	βB	βB	

Biologický poločas

asi 45 min.

Literatura

1. Fukuchi Y, Kizaki M, Yamato K.: Mcl-1, an early-induction molecule, modulates activin A- induced apoptosis and differentiation of CML cells, *Oncogene* 2001, 20, 704-713
2. Sakai R, Eto Y.: Involvement of activin in the regulation of bone metabolism, *Mol. Cell. Endocrinol* 2001, 180, 183-188.
3. Shav-Tal Y., Zipori D.: The role of activin A in regulation of hemopoiesis, *Stem Cells* 2002, 20, 493-500.
4. Shingo Niimi, Masashi Hyuga, Hiromi Kazama, Masami Inagawa, Taiichiro Seki, Toyohiko Ariga, Tetsu Kobayashi and Takao Hayakawa: Activins A, AB, and B Inhibit Hepatocyte Growth Factor Synthesis by MRC-5 Human Lung Fibroblasts, *Biol. Pharm. Bull* 2002, 25, 1405-1408.
5. Welt C., Sidis Y, Keutmann H., Schneyer A.: Activins, inhibins, and follistatins: from endocrinology to signaling. A paradigm for the new millenium. *Exp. Biol. Med* 2002, 227(9), 724-752.

Alfa-fetoprotein (AFP)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Alfa-fetoprotein (AFP) je sérový onkofetální protein. Stanovení koncentrace AFP v séru těhotných, spolu s dalšími markery (hCG, nekonjugovaným estriolem uE_3 , případně inhibinem A), se využívá ve 2. trimestru těhotenství ke **screeningu vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací a k diferenciální diagnostice komplikací ve 3. trimestru těhotenství**. Kromě toho je AFP využíván jako nádorový marker u germinativních nádorů.

Struktura

AFP je glykoprotein o molekulové hmotnosti přibližně 67–72 kDa. Na jednoduchý polypeptidový řetězec (590 aminokyselin), propojený disulfidickými můstky, jsou navázány sacharidy (obsah 3–5 %). Struktura AFP (3 hlavní domény) je podobná albuminu, v molekule AFP je však výrazněji zastoupeno několik aminokyselin (např. glycin, serin a izoleucin). Na epitopové mapě AFP je dosud rozlišeno 16 epitopů, z nichž 3 jsou markerem konformačního stavu molekuly. AFP z různých materiálů (séra z různých nádorů, plodová voda atd.) obsahuje různé varianty těchto epitopů.

Tvorba, metabolismus, funkce

AFP je syntetizován ve velkém množství v embryonálním žlutkovém vaku a ve fetálních játrech během vývoje plodu. Vzhledem k tomu, že jeho koncentrace v séru je již v tomto období vývoje plodu vysoká (dokonce vyšší než hladina albuminu), předpokládá se i jeho funkce obdobná albuminu ("fetální albumin"). Syntéza AFP výrazně klesá po porodu. V dospělých játrech se tvoří jen jeho stopové množství a v dospělém zdravém organismu jsou fyziologické hladiny AFP velmi nízké. Za určitých patologických stavů (především nádorů) však k jeho produkci opět dochází. AFP je degradován játry a vylučován ledvinami.

Lidský AFP je kódován genem AFP, který je lokalizován na rameni q chromozomu 4 (4q25).

AFP je považován za důležitý přímý či nepřímý faktor spojený s regulací, diferenciací a transformací v ontogenetickém i onkogenním procesu, s antioxidačními procesy apod. U plodu je významná role transportní (vazba steroidů, některých těžkých kovů, bilirubinu, mastných kyselin, retinoidů, drog, antibiotik apod.) a úloha v imunitních procesech. U dospělých je jeho funkce nejasná.

Biologická variabilita

Hladina AFP závisí na věku. V séru vyvíjejícího se plodu se zvyšuje až do 14. týdne gravidity (maximum okolo 3 g/l). Od 21. týdne jeho syntéza postupně slábne a přibližně do dvou let je jeho hladina ustálena na hodnotách zdravých dospělých jedinců (pod 10 µg/l).

Dalším faktorem ovlivňujícím hladinu AFP je těhotenství. AFP v séru těhotné ženy se postupně zvyšuje až do 32. týdne gravidity (průměrně asi 400 µg/l), pak klesá až do porodu. V plodové vodě je nejvyšší hladina AFP v 1. trimestru (maximum je obvykle kolem 40 mg/l), poté postupně klesá.

Biologický poločas

asi 3–7 dnů

Preanalytika

- materiál: sérum, plodová voda
- vzorek krve nabírat v 15.-20. týdnu těhotenství, ráno mezi 6. a 8. hodinou
- je třeba uvést věk a hmotnost matky a gestační věk k datu ultrasonografie
- vliv materiálu: nepoužívat silně hemolyzované či lipemické vzorky
- vliv léků: není znám
- další vlivy:
 - hladinu zvyšují: alkoholismus, benigní onemocnění jater

Interpretace výsledků

Hodnocení AFP spolu s dalšími markery (hCG, nekonjugovaný estriol, případně inhibin A) pro účely screeningu VVV a chromozomálních aberací provádí genetik za pomoci speciálního softwaru. Pro výpočet je především nutná znalost gestačního týdne, věku a váhy těhotné a anamnestických údajů (např. diabetes).

Hodnoty AFP v séru těhotné jsou zvýšené při rostoucím riziku defektu neurální trubice a rozštěpu břišní stěny plodu a komplikací ve 3. trimestru (hrozící potrat, preeklampsie), jsou naopak snižené při zvýšeném riziku chromozomálních aberací plodu.

Literatura

1. Canick JA, MacRae AR. Second trimester serum markers. *Semin Perinatol.* 2005 Aug;29(4):203-8.
2. Chard T: Pregnancy. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook.* 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
3. Huang T, Hoffman B, Meschino W et al. Prediction of adverse pregnancy outcomes by combinations of first and second trimester biochemistry markers used in the routine prenatal screening of Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2010 May;30(5):471-7.
4. McPherson E, Thomas GD, Manlick C et al. Extreme values of maternal serum analytes in second trimester screening: looking beyond trisomy and NTD's. *J Genet Couns.* 2011 Aug;20(4):396-403.
5. Yuan W, Chen L, Bernal AL. Is elevated maternal serum alpha-fetoprotein in the second trimester of pregnancy associated with increased preterm birth risk? A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009 Jul;145(1):57-64.
6. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). *Laboratorní diagnostika.* 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.

Androstendion (AD)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Androstendion (AD) je steroidní hormon, patří do skupiny androgenů. Je prekurzorem dvou nejvýznamnějších mužských pohlavních hormonů - testosteronu a dihydrotestosteronu, ale též ženských pohlavních hormonů – estronu (E1) a estradiolu (E2). Měření hladiny AD je ukazatelem stavu androgenní biosyntézy. Využívá se pro **diagnostiku a diferenciální diagnostiku hyperandrogenizmu, diagnostiku kongenitální adrenální hyperplazie (CAH) a monitorování její léčby a diagnostiku předčasného adrenarche.**

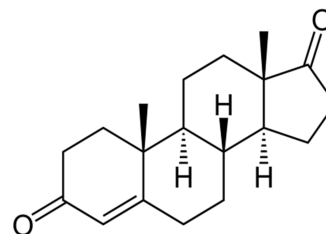
Struktura

Systematický název: 4-androsten-3,17-dion

Sumární vzorec: $C_{19}H_{26}O_2$

Strukturní vzorec: obr. 4

Molekulová hmotnost: 286 Da



Obr. 4: Strukturní vzorec androstendionu
(zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

Androstendion je produkován nadledvinami a pohlavními žlázami. Vzniká dvěma cestami syntézy (obr. 2): z prekurzorů dehydroepiandrosteronu (DHEA) nebo 17α -hydroxyprogesteronu. AD je pak sám prekurzorem biosyntézy testosteronu i estrogenů estronu a estradiolu. Produkce AD v nadledvinách řídí adrenokortikotropní hormon (ACTH), zatímco produkce v pohlavních žlázách je řízena gonadotropiny. U mužů je AD především syntetizován varlaty, pouze asi 2% celkové produkce v kůře nadledvin. U premenopauzálních žen je produkce rovnoměrně rozdělena mezi nadledviny a vaječníky. Po menopauze produkce AD klesá přibližně o 50%, především díky snížení ovariální sekrece, nicméně AD je hlavní steroidní hormon produkováný vaječníky i po menopauze. Produkce AD v nadledvinách postupně klesá s pokročilým věkem u mužů i žen.

AD, stejně jako ostatní steroidy, může být vázán na transportní proteiny. V oběhu je možné nalézt AD slabě vázaný na albumin. Afinita k SHBG je u AD mnohem nižší než u testosteronu a estradiolu. Přestože je AD slabý androgen, můžou jeho sérové hladiny překročit hladiny testosteronu za normálních i patologických stavů.

AD je inaktivován a metabolizován, tak jako většina steroidů, v játrech. Jeho metabolity jsou pak z 90% vylučovány ledvinami do moči.

Fyziologické role AD nejsou zatím dostatečně objasněny. Zvýšené hladiny AD mohou hrát určitou roli ve vývoji sekundárních pohlavních znaků během adrenarche. Nežádoucí účinky, které se projevují u mužů při suplementaci AD, jsou zvětšení prsou, zvětšení prostaty a zvýšené riziko rakoviny prostaty.

Biologická variabilita

Hladiny cirkulujícího AD jsou závislé na věku a pohlaví.

Kromě toho jsou ovlivněné diurnálními a dalšími cykly. Sérové hladiny AD vykazují během dne výrazné změny v závislosti na sekreci ACTH, jsou nejvyšší v dopoledních hodinách. AD kolísá během menstruačního cyklu s maximem v luteální fázi. Plazmatické hladiny AD se zvyšují během těhotenství, po porodu a po menopauze se naopak snižují.

Biologický poločas

asi 50 min.

Preanalytika

- odběr vzorku krve ráno mezi 6. a 8. hodinou, 7 dnů před nebo po menstruaci
- vliv materiálu: nepoužívat hemolyzované nebo lipemické vzorky
- vliv léků: není znám
- další vlivy:
 - hodnoty snižuje: obezita
 - hodnoty zvyšuje: kouření, fyzická zátěž

Referenční interval

Tab. 5 Hladiny androstendionu

	Metoda: radioimunoanalýza, Androstenedione, Immunotech (ng/ml)
Dospělí (muži + ženy)	0,14 – 2,92
muži	0,30 – 2,63
ženy	0,10 – 2,92

Rovnice pro převody jednotek: 1 ng/ml = 3,49 nmol/l.

Interpretace výsledků

Změny hladin AD lze nalézt u celého širokého spektra poruch (tab. 6).

Tab. 6 Interpretace výsledků stanovení androstendionu

Zvýšená hladina
Hirsutismus
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Kongenitální adrenální hyperplázie
Cushingův syndrom
Nádor produkující ACTH
Hyperplázie nebo nádor vaječníků
Předčasné adrenarचे
Předčasná puberta
Osteoporóza u žen
Užívání steroidů

Snížená hladina
Deficit 17 α -hydroxylázy
Porucha nadledvin
Selhání vaječníků
Srpkovitá anémie
Užívání kortikosteroidů

Literatura

1. Barrett-Connor E., Garland C., McPhillips J. B., Khaw K.-T., Wingard DL: A prospective, population-based study of androstenedione, estrogens, and prostate cancer. *Canc. Res.*, 1990, 50, 169-173.
2. Cavallo A., Corn C., Bryan G. T., Meyer W. J. III: The use of plasma androstenedione in monitoring therapy of patients with congenital adrenal hyperplasia. *J. Pediatr.*, 1979, 95, 33-37.
3. Dorfman R. I., Shiple R. A.: *Androgens*, John Wiley and Sons, New York, 1956, 116-128.
4. Horton R., Tait J.: Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone. *J. Endocrinol. Invest.*, 1966, 45,301-313.
5. Pang S., Riddick L.: Hirsutism. In:Lifshitz F (ed): *Pediatric Endocrinology, A Clinical Guide*, second edition. Marcel Dekker, Inc., New York, 1990, 259-291.
6. Rittmaster R.S., Thompson D.L.: Effects of leuprolide and dexamethasone on hair growth and hormone levels in hirsute women: The relative importance of the ovary and adrenal in the pathogenesis of hirsutism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1990, 70, 1096-1102.
7. Wheeler, MJ. Hirsutism and Virilization in the Female. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
8. Zwicker H., Rittmaster R. S.: Physiology and significance in hirsute women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993, 76, 112-116.

Antimülleriánský hormon (AMH)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Antimülleriánský hormon (AMH) hraje zásadní roli ve vývoji a diferenciaci pohlaví plodu. Využívá se pro **stanovení individuální ovariální rezervy u žen**, **diagnostiku ovariálního hyperstimulačního syndromu (OHSS) při asistované reprodukci**, **diagnostiku a sledování syndromu polycystických ovaríí (PCOS)**, **diagnostiku a léčbu nádorů granulózových buněk vaječníků** a u dětí s **nejednoznačnými genitáliemi**.

Struktura

AMH je glykoprotein, patří do skupiny transformujícího růstového faktoru β (TGF- β). Tato skupina zahrnuje TGF- β a další inhibinové a aktivinové glykoproteiny. AMH je dimerní glykoprotein o délce 560 aminokyselin. Je složený ze dvou monomerních podjednotek AMH-N a TGF- β . Molekula je glykosylována v pozicích 64 a 329 a prostorově je modifikována čtyřmi disulfidickými můstky.

Molekulová hmotnost: 72 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

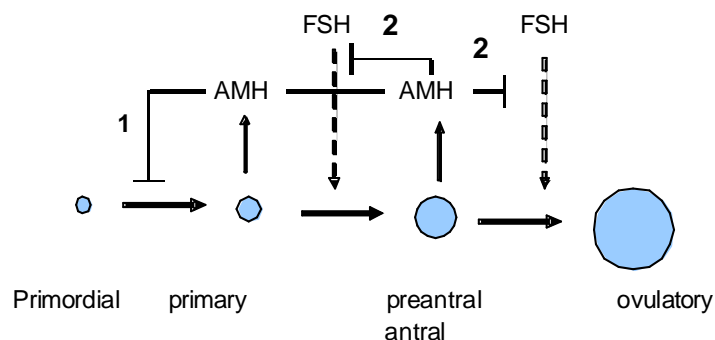
Tvorba AMH probíhá u mužů v Sertoliho buňkách varlat a to jak prenatálně, tak i postnatálně, u žen pouze postnatálně v granulózových buňkách ovaríí.

AMH je pojmenován podle první popsané funkce, kterou má při diferenciaci pohlaví plodu: regrese Müllеровých vývodů v průběhu časně mužské sexuální diferenciaci. Od této funkce byl též odvozen jeho první, dnes již zřídka používaný název MIS (Müllerian Inhibiting Substance). Kromě zprostředkování tohoto klíčového aspektu vývoje reprodukční soustavy plodu hraje AMH také zásadní regulační roli jak ve vyvíjejících se, tak ve zralých gonádách.

U mužského plodu začínají Sertoliho buňky varlat vylučovat AMH, zatímco Leydigovy buňky vylučují androgeny. Androgeny způsobují přeměnu Wolfových vývodů na mužské vnitřní pohlavní ústrojí. AMH vyvolává nevratnou regresi Müllеровých vývodů, která je dokončena do konce 9. týdne těhotenství. Tento proces nemůže bez přítomnosti AMH proběhnout. AMH je tedy jedním z prvních specifických proteinů produkovaných Sertoliho buňkami gonád. U plodu ženského pohlaví umožňuje nepřítomnost AMH další rozvoj Müllеровých vývodů, zatímco nepřítomnost androgenů způsobuje regresi Wolfových vývodů a tak vzniká vnitřní ženské pohlavní ústrojí.

U žen je hlavní úlohou AMH regulace dozrávání folikulů. AMH je exprimováno v několika stadiích folikulogeneze. Produkce AMH probíhá přednostně v preantrálních a raně antrálních folikulech (velikost méně než 4 mm) a klesá ve zralých folikulech a v luteální fázi. AMH hraje významnou roli při výběru dominantního folikulu. Vytváří se v rostoucích folikulech (primárních a preantrálních) v postnatálních ovariích a má dva mechanismy účinku:

- inhibuje výběr primordiálního folikulu (obr. 5, cesta 1)
- inhibuje stimulaci růstu preantrálních a malých antrálních folikulů hormonem FSH (obr. 5, cesta 2).



Obr. 5 Model působení AMH ve vaječniku

Biologická variabilita

Hladiny AMH závisí na věku a pohlaví. U mužů, s výjimkou přechodného poklesu v perinatálním období, je produkce udržována na vysoké úrovni až do puberty, kdy se v souvislosti se zráním Sertoliho buněk aktivita AMH snižuje. Pokles produkce AMH Sertoliho buňkami během puberty závisí spíše na stadiu puberty než na věku. K nejvýznamnějšímu poklesu sérového AMH dochází mezi II. a III. stadiem puberty (podle Tannera) a to současně se zvýšením intratestikulární koncentrace testosteronu, které nastává dříve než je ho možné pozorovat v séru. U dospělých mužů zůstává hladina AMH nízká.

Hladiny AMH u žen jsou v porovnání s koncentracemi nalezenými u mužů řádově nižší. Mírné zvýšení lze pozorovat v období prepuberty. Maximálních hodnot dosahuje AMH po pubertě. S rostoucím věkem se hladina AMH snižuje. Po menopauze hladina klesá k nulovým hodnotám.

Koncentrace AMH v krvi se významně nemění v průběhu menstruačního cyklu.

Biologický poločas

asi 48h.

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: nepoužívat silně hemolyzované nebo lipemické vzorky
- vliv léků: není znám
- další vlivy: nejsou známy

Referenční interval

Tab. 7 Hladiny AMH (Imunoanalytická metoda: ELISA, AMH Gen II, Beckman Coulter).

Populační skupina	Medián věku (roky)	Referenční interval (ng/ml)
Chlapci	4,8	3,8 – 160
Dívky	5,0	ND – 8,9
Muži	38	1,3 – 14,8
Ženy	30	ND – 12,6
Ženy po menopauze	71	ND

ND – Nedetekovatelná hladina

Rovnice pro převody jednotek: $1 \text{ ng/ml} = 7,14 \text{ pmol/l}$.

Interpretace výsledků

Zvýšené hladiny AMH jsou spojovány se syndromem polycystických ovarií (PCOS), kdy nadbytek folikulů produkuje abnormálně vysoké množství AMH. Též jsou nalézány u některých typů ovariálních nádorů.

Abnormální hladiny AMH lze nalézt u širokého spektra dalších poruch (tab. 8).

Tab. 8 Interpretace výsledků stanovení AMH

Snížená hladina
Kryptorchismus a anorchie u chlapců
Některé případy předčasné puberty
Testikulární disgeneze
Předčasná menopauza

Zvýšená hladina
Opožděná puberta u chlapců
Gonadotropin independentní předčasná puberta
Testotoxikóza u chlapců
Některé případy necitlivosti na androgeny
Některé případy poruch biosyntézy testosteronu
Disgenetická varlata nebo ovotestes u dětí
Nádory Sertoliho-Leydigových buněk ovotestes
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Nádory granulózových buněk ovarií
Nádory Sertoliho buněk testes

Literatura

1. Feyereisen E. et al. AMH: Clinical Insights Into a Promising Biomarker of Ovarian Follicular Status. 2006, *RBMOnline* 6, 695-703.
2. La Marca A., Stabile G., Carducci Artensio A., Volpe A.: Serum AMH throughout the human menstrual cycle. *Hum. Reprod.* 2006, 21(12), 3103-3107.
3. La Marca A., Volpe A.: AMH in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin. Endocrinol.*, 2006, 64, 603-610.
4. La Marca A., Volpe A.: The Anti-Mullerian hormone and ovarian cancer, *Hum. Reprod.* 2007, 13(3), 265-273.
5. Matzuk M. M., Lamb D.J. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. 2006, *Nature Medicine* 14, 1197 – 1213.
6. Robertson D. M., Hale G.E., Jolley D., et al. Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycles across reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, 94(1), 138-44.
7. Van Disseldorp J., Faddy M. J., Themmen A.P.N., De Jong F.H., Peeters P.H.M., Van der Schouw Y.T., Broekmans F.J.M.: Relationship of serum AMH concentration to age at menopause. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 93(6), 2129-2134.
8. Visser J.A., deJong F.H., Laven J.S.E., Themmen A.P.N. AMH: A New Marker for Ovarian Function. 2006, *Reproduction* 131, 1-9.

DHEA/DHEAS

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Steroidy dehydroepiandrosteron (DHEA), resp. jeho sulfát (DHEAS), jsou slabé androgeny, jejich sekrece u žen je však řádově vyšší než v případě ostatních androgenů. Stanovení se využívá pro **diferenciální diagnostiku poruch menstruačního cyklu, ovariálních poruch a virilizačních syndromů**.

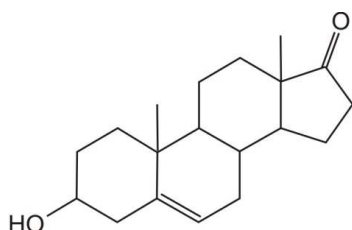
Struktura

Systematický název DHEA:

3 β -hydroxy-5-androsten-17-on

Sumární vzorec DHEA: C₁₉H₂₈O₂.

Strukturní vzorec DHEA: obr. 6



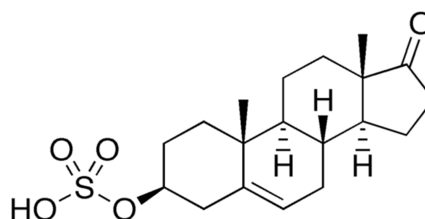
Obr. 6: Strukturní vzorec dehydroepiandrosteronu (zdroj: wikipedia.com)

Systematický název DHEA-S:

3 β -hydroxy-5-androsten-17-on sulfát

Sumární vzorec DHEAS: C₁₉H₂₈O₅S.

Strukturní vzorec DHEAS: obr. 7



Obr. 7: Strukturní vzorec dehydroepiandrosteron sulfátu (zdroj: wikipedia.com).

Molekulová hmotnost DHEA: 288 Da

Molekulová hmotnost DHEAS: 368,5 Da

Tvorba, metabolismus, funkce

DHEA a DHEAS jsou steroidy vytvářené z cholesterolu v zona reticularis kůry nadledvin. Zde je jejich produkce řízena ACTH. DHEAS je hlavní sekreční a cirkulující forma DHEA. Většina DHEAS se převádí v periferních tkáních na DHEA a ten potom dále na silné androgeny až estrogy. DHEA je produkován v malém množství v pohlavních žlázách, v tukové tkáni a mozku.

Oba hormony jsou v krvi vázány na albumin: DHEA slabě, DHEAS se váže k albuminu s relativně vysokou afinitou. DHEAS se neváže na SHBG, tudíž jeho koncentrace není ovlivněna koncentrací SHBG v séru.

Přesné fyziologická funkce DHEA a DHEAS zatím nebyly popsány. Má se za to, že jejich hlavní funkcí je role prekursoru dalších androgenů.

Biologická variabilita

Hladiny DHEA a DHEAS závisí na věku a pohlaví. DHEAS se v krvi snižuje s věkem (nejvyšší koncentrace krátce po pubertě, kontinuální pokles po 3 dekádě života), DHEA nepatrně také.

DHEAS podléhá diurnálnímu rytmu. Je také ovlivněn sezónními variacemi (srpen-říjen (zvýšení), únor-duben (zvýšení), květen-červenec (snížení), červenec-listopad (snížení). Koncentrace DHEAS se během menstruačního cyklu příliš nemění a její pokles je sice věkově závislý, ale není zlomově ovlivněna přechodem nebo menopauzou. Hodnoty snižuje těhotenství (pokles od 18. do 40. týdne těhotenství).

Biologický poločas

DHEA: 15 – 30 min, DHEAS: 7 – 10 h

Indikace k vyšetření

- Diagnostika a diferenciální diagnostika hyperandrogenismu
- Diagnostika a diferenciální diagnostika PCOS
- Diagnostika a monitorování léčby kongenitální adrenální hyperplazie
- Diagnostika a diferenciální diagnostika předčasného adrenarche
- Diagnostika androgen-sekretujícího nádoru nadledvin
- Monitorace osteoporózy

Preanalytika (DHEAS)

Pro klinickou praxi se většinou využívá stanovení DHEAS, neboť v případě DHEA je nutné před vlastním stanovením provádět poměrně náročnou extrakci.

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: nepoužívat hemolytický, ikterický a chylózní materiál
- vliv léků:
 - hladinu snižují: orální kontraceptiva
- další vlivy
 - hladinu snižují: alkoholismus, obezita, fyzická a psychická zátěž, estradiol, glukóza, depresivní stavy (ranní snížení hladin)
 - hladinu zvyšují: fyzická zátěž (až o 100% !), hladovění, kouření, ACTH

Referenční interval

Tab. 9 Hladiny DHEA

	Metoda: RIA, DHEA, Immunotech (ng/ml)
dospělí	
• muži	1,4 – 12,5
• ženy	0,8 – 10,5

Rovnice pro převody jednotek:

$$1 \text{ nmol/l} = 3,47 \text{ ng/ml}$$

Tab. 10 Hladiny DHEAS

	Metoda: RIA, DHEAS, Immunotech (ng/ml)
muži	
• 19 – 30 let	1 250 – 6 190
• 31 – 50 let	590 – 4520
• 51 – 60 let	200 – 4130
• 61 – 83 let	100 – 2850
ženy	
• 19 – 30 let	290 – 7810
• 31 – 50 let	120 – 3790
• Po menopauze	300 – 2600

Rovnice pro převody jednotek: $1 \text{ nmol/l} = 2,7 \text{ ng/ml}$.

Interpretace výsledků

DHEAS je spolehlivým indikátorem sekrece androgenů kůrou nadledvin; hladiny DHEAS jsou zvýšené pouze u adrenálních příčin. Klinické využití je sumarizováno v tab. 11, diagnózy se sníženou nebo zvýšenou hladinou DHEAS v tabulce 11.

Tab. 11 Interpretace výsledků stanovení DHEAS

Zvýšená hladina
Vrozená adrenální hyperplazie (CAH)
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Hirsutismus
Virilizující adrenální tumory
ACTH produkující tumory
Předčasné adrenarche
Cushingův syndrom
Schizofrenie
Obezita

Snížená hladina
Hypoadrenalismus
Opožděná puberta
Hyperlipidémie
Psychózy
Lupénka

Literatura

1. Pang S., Riddick L.: Hirsutism. IN Lifshitz F (ed.): Pediatric Endocrinology, A Clinical Guide, second edition. Marcel Dekker, Inc., New York, 1990, 259-291.
2. de Peretti E., Forest M. G.: Pattern of plasma dehydroepiandrosterone sulfate levels in humans from birth to adulthood: evidence for testicular production. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1978,47,572-577
3. Lashansky G., Saenger P., Fishman K., Gautier T., Mayes D., Berg G, Di Martino-Nardi J., Reiter E.: Normative data for adrenal steroidogenesis in a healthy pediatric population: age and sex-related changes after adrenocorticotropin stimulation. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991,73,674-686
4. Zumoff B., Roenfeld R. S., Stain G. W., Levin J., Fukushima D. K.: Sex differences in twenty-four hour mean plasma concentration of dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) and the DHEA to DHEAS ratio in normal adults. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1980, 51, 330-333
5. Pang S., Lerner A., Stoner E., Oberfield S., Engle I., New M.: Late-onset adrenal steroid 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency: A cause of hirsutism in pubertal and postpubertal women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1985,60,428-439
6. Lee P.D.K., Winter R. J., Green O.C.: Virilizing adrenocortical tumors in childhood: eight cases and a review of the literature. Pediatrics, 1985, 76, 437-444
7. Rittmaster R. S.: Differential suppression of testosterone and estradiol in hirsute women with the superactive gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1988, 67,651-655, 1988.
8. Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.

Dihydrotestosteron (DHT)

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Dihydrotestosteron (DHT) patří do skupiny androgenů, vzniká z testosteronu. **Měření sérového DHT slouží jako základní ukazatel periferní produkce androgenů.** U žen je využíván při substituci v případě androgenní nedostatečnosti.

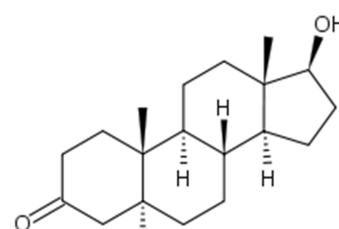
Struktura

Systematický název: 17 β -hydroxy-5 α -androstan-3-on

Sumární vzorec: C₁₉H₃₀O₂

Strukturní vzorec: obr. 8

Molekulová hmotnost: 290 Da



Obr. 8 Strukturní vzorec dihydrotestosteronu (zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

DHT je androgenní metabolit testosteronu. Není syntetizován *de novo*, nýbrž vzniká 5 α redukcí testosteronu. Z celkového množství testosteronu se 6-8% přeměňuje pomocí enzymu 5 α -reduktázy na DHT. Přeměna probíhá především v prostatě, kůži genitálií, vlasových folikulech, nadledvinách a varlatech.

Cílovými buňkami působení DHT jsou buňky prostaty, semenných váčků a vnějších genitálií. DHT se váže přímo na androgenní receptor. DHT má třikrát vyšší afinitu k androgennímu receptoru než testosteron, proto je silnějším androgenem. U plodu je DHT zodpovědný za vývoj vnějšího mužského genitálu a prostaty. Po narození a v průběhu dalšího života DHT významně přispívá k rozvoji mužského habitu včetně obličeje a těla, růstu vlasů a vousů a prohlubování hlasu. DHT je důležitým faktorem pro snížení estrogenních účinků u mužů. Na rozdíl od testosteronu nemůže být DHT přeměněn aromatázou na estradiol, a proto působí jako čistý androgen.

Biologický poločas

nenalezen

Referenční interval

Hladiny DHT u různých populačních skupin jsou uvedeny v tabulce 12.

Tab. 12 Hladiny dihydrotestosteronu

	Metoda: RIA, Dihydrotestosterone, Immunotech (pg/ml)
novorozenci	
• chlapci	100 – 530
• dívky	20 – 130
děti - věk 15 – 17 let	
• chlapci	240 – 650
• dívky	30 – 180
dospělí	
• muži	300 – 850
• ženy	40 – 220

Rovnice pro převody jednotek: $1 \text{ pmol/l} = 3,44 \text{ pg/ml}$.

Interpretace výsledků

Tab. 13 Interpretace výsledků stanovení dihydrotestosteronu

Zvýšená hladina
Hirsutismus
Androgenní alopecie
Benigní hyperplázie prostaty
Karcinom prostaty

Snížená hladina
Deficit 5 α -reduktázy
Hypogonadismus
Klinefelterův syndrom

Literatura

1. Burtis C. A., Ashwood E.R., Bruns D.A.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2006, 2097-2104
2. Griffin J. E., Wilson J.D.: Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: Wilson JD, Foster DW, eds. Williams Textbook of Endocrinology (8th ed.). Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1992, 799-852
3. Miller WL: Molecular biology of steroid hormone synthesis. Endocrin. Rev. 1988, 9, 295-318
4. Pang S., Riddick L.: Hirsutism. In Lifshitz F.: Pediatric Endocrinology, A Clinical Guide, second edition. Marcel Dekker, New York, 1990, 259-291
5. Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
6. Wilson J. D.: Syndromes of androgen resistance. Biol. Reprod., 1992, 46,168-173

Estrogeny

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Estrogeny jsou skupinou hormonů důležitých pro vývoj sekundárních pohlavních znaků u žen a pro periodický vývoj děložní sliznice. Tvorbu estrogenu stimuluje folikuly stimulující hormon (FSH); když koncentrace estrogenu dosáhne určité hladiny, je uvolněn luteinizační hormon (LH), který vyvolá uvolnění folikulu v ovariích (ovulace).

Jsou známy tři nejdůležitější formy estrogenu: estron (E1), estradiol (E2) a estriol (E3).

Estron (E1) je hlavním estrogenem v postmenopauzálním období, vzniká z metabolických přeměn z nadledvin a často také v tukové tkáni. Další dva estrogeny jsou podrobněji popsány níže.

Estradiol (E2)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Estradiol (17- β -estradiol, E2) je nejvíc biologicky aktivním estrogenem a u fertálních žen je dominantním cirkulujícím estrogenem. Má široké uplatnění: **vyhodnocování normálního pohlavního vývoje, vyšetřování anomálií menstruačního cyklu, odhalování příčin neplodnosti, vyšetření ovariální insuficience, kontrolu medikamentózně vyvolané ovulace, předpověď rizika ovariálního hyperstimulačního syndromu, diferenciální diagnostiku hirsutismu a jiných virilizujících onemocnění a ovariálních tumorů.**

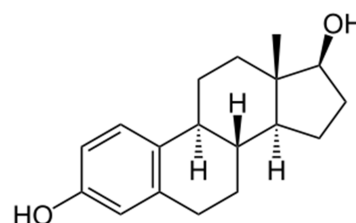
Struktura

Systematický název: (17 β)-estra-1,3,5(10)-trien-3,17-diol

Sumární vzorec: C₁₈H₂₄O₂

Strukturní vzorec: obr. 9

Molekulová hmotnost: 272,39 Da



Obr. 9: Strukturní vzorec estradiolu (zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

U netěhotných žen ve fertlím věku je estradiol produkován převážně v ovariích. V těhotenství je též produkován placentou. U postmenopauzálních žen většina estrogenů vzniká přeměnou androstendionu na estron, která probíhá v periferních tukových tkáních.

Estradiol cirkuluje v krvi vázaný na SHBG a albumin, pouze 1-3% jsou ve volné formě. Je metabolizován v játrech (jedním z metabolitů je estriol) a vylučován močí.

Estradiol působí zpětnovazebně na sekreci LH a FSH. U žen ve fertlím věku je jedním z hlavních hormonů uplatňujícím se v regulaci menstruačního cyklu. Spolu s ostatními estrogeny se také spolupodílí na zadržování solí a vody a má anabolický účinek při metabolismu bílkovin. Hraje důležitou roli v regulaci pohlavního vývoje od počátku puberty a v těhotenství: podílí se na vývoji a funkci sexuálních orgánů a je příčinou sekundárních pohlavních znaků u žen. Je též nezbytný pro vývoj mléčných žláz a laktaci.

Biologická variabilita

Hladina estradiolu závisí na věku a pohlaví. U dětí a mužů je obvykle nízká.

U adolescentních dívek je zřejmý vliv diurnálního kolísání, u žen v reprodukčním věku je tento vliv slabý. Uplatňuje se vliv menstruačního cyklu. Fertlní ženy mají hladiny estradiolu nejnižší v období menzes a v časně folikulární fázi. V pozdní folikulární fázi dochází k jejich zvýšení krátce před nárůstem hladiny LH, který iniciuje ovulaci. Jakmile hladina LH dosáhne maxima, začíná estradiolu ubývat až do nástupu luteální fáze, kdy jeho hladina opět vzrůstá. Pokud nedojde k oplodnění, hladina estradiolu rychle klesne na nejnižší hodnoty, čímž vyvolá menses. Pro interpretaci je proto nutno uvést den menstruačního cyklu či zda je žena menopauzální. V menopauze jsou hladiny estradiolu trvale nízké.

Jestliže dojde k oplodnění, hladiny estradiolu dále vzrůstají až na hodnoty, které dosahují v prvním trimestru až 18,35 nmol/l, v druhém trimestru do 55,0 nmol/l a v třetím trimestru 146,8 nmol/l. Ve 2. a 3. trimestru je možnost ovlivnění hladiny estradiolu vysokými hladinami estriolu.

Biologický poločas

asi 13 hodin

Preanalytika

- doporučený materiál: sérum
- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: nepoužívat vzorky s přítomností fibrinu, erytrocytů
- vliv léků:
 - vzorky by neměly být odebrány pacientům podstupujícím léčbu s vysokými dávkami biotinu (tj. >5 mg/den) po dobu nejméně 8 hodin od podání poslední dávky biotinu.
 - hodnoty snižuje: hormonální antikoncepce
 - hodnoty zvyšuje: klomifen
- další vlivy:
 - hodnoty zvyšují: hladovění, ztráta hmotnosti, kojení, fyzická zátěž, tepelná zátěž

Referenční interval

Tab. 14 Hladiny estradiolu

	Metoda CMIA, Estradiol, Architect, Abbott (nmol/l)
Ženy	
• folikulární fáze	0,077-0,920
• luteální fáze	0,077-1,145
• ovulační peak	0,140-2,382
• po menopauze bez hormonální terapie	0 - 0,103
• po menopauze s hormonální terapií	0 - 0,529

Rovnice pro převody jednotek: 1 ng/ml = 3,76 nmol/l

Interpretace výsledků

Stanovení plazmatického estradiolu je hlavním parametrem při monitorování indukce ovulace a ovariální hyperstimulace. Zvýšení rychlosti syntézy a koncentrace estradiolu v konečné fázi stimulace odráží počet a kvalitu vyvíjejících se folikulů. Zvýšené hladiny estradiolu mohou být rizikovým faktorem vzniku ovariálního hyperstimulačního syndromu (OHSS).

Stanovení je též vhodné pro zjišťování příčin ovariální insuficience, anomálií menstruačního cyklu, hirsutismu a amenorhei hypotalamického původu. Ve všech těchto případech, stejně tak i v menopauze, jsou koncentrace estradiolu velmi nízké.

U mužů ve vyšších koncentracích estrogen způsobuje gynekomastii s typicky ženskými sekundárními pohlavními znaky.

Hladiny estradiolu se zvyšují u nádorů produkujících estrogeny.

Tab. 15 Interpretace výsledků stanovení estradiolu

Zvýšená hladina	Snížená hladina
Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS)	Ovariální insuficience
Nádory produkující estrogény	Poruchy menstruačního cyklu
Nádor nadledvin (u mužů)	Anovulace
Gynekomastie (u mužů)	Hirsutismus
	Osteoporóza

Literatura

1. Aboulghar M. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). Hum. Reprod. (2003) 18 (6): 1140-1141.
2. Raff H, Sluss PM. Pre-analytical issues for testosterone and estradiol assai. steroids 73 (2008) 1297–1304
3. Rittmaster R.S.: Differential suppression of testosterone and estradiol in hirsute women with the superactive gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1988, 67,651-655, 1988.
4. Robertson D.M., Hale G.E., Jolley D., et al. Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycles across reproductive age. J Clin Endocrinol Metab. 2009, 94(1), 138-44.
5. Wheeler MJ. Infertility. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
6. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). Laboratorní diagnostika. 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.

Estriol (E3)

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Estriol (E3) je jedním ze tří hlavních ovariálních estrogenů, spolu s estradiolem a estronem. Je typický pro sérum těhotných žen, kam se dostává z plodu. Nekonjugovaný E3 (tj. frakce estriolu, která není vázaná na transportní protein) je používán společně s AFP a hCG jako **biochemický marker při screeningu vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací plodu v 2. trimestru těhotenství**. Rovněž se využívá pro **posouzení fetoplacentární jednotky v těhotenství**.

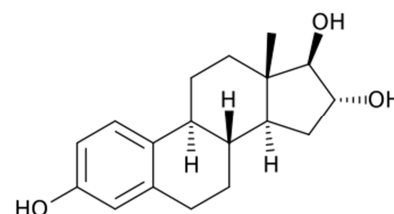
Struktura

Systematický název: (16 α ,17 β)-Estra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol

Sumární vzorec: C₁₈H₂₄O₃

Strukturní vzorec: obr. 10

Molekulová hmotnost: 288,4 Da



Obr. 10: Strukturní vzorec estriolu (zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

Estriol je syntetizován v placentě. Prvním krokem je syntéza jeho prekurzoru dehydroepiandrosteronu (DHEA) ve fetálních nadledvinách. Ve fetálních játrech proběhne hydroxylace na 16-alfa-OH-DHEAS a sulfatace na (DHEAS/16-alfa-OH-DHEAS). Látky jsou transportovány do placenty, kde v syncytiotrofoblastu dojde k odštěpení sulfátu sulfatázou (může být deficit se snížením estriolu, ale normálním průběhem gravidity) a konverzi aromatázou na estriol. Estriol je vylučován ledvinami plodu do plodové vody, jeho část proniká do krve matky. V játrech je konjugován s glukuronátem a vyloučen močí.

Specifická funkce estriolu zatím nebyla objasněna. Někteří autoři se domnívají, že E3 stimuluje endometrium a zvyšuje průtok krve v děloze. Avšak tato jeho aktivita nebude příliš významná, jelikož absence E3, ke které dochází při deficitu sulfatázy, neovlivňuje výsledek těhotenství.

Biologická variabilita

Estriol je ve významném množství přítomen pouze u těhotných žen. Jeho hladiny závisí na fázi těhotenství: koncentrace v krvi matky kontinuálně narůstá od 8. týdne těhotenství až do porodu.

Hladiny estriolu podléhají také diurnálnímu rytmu.

Biologický poločas

20-30 min.

Preanalytika

- Materiál: sérum
- Vzorke nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- Vliv materiálu: nepoužívat silně hemolyzované vzorky
- Vliv léků: není znám
- Další vlivy: hodnoty snižuje: kouření

Referenční interval

Tab. 16 Hladiny estriolu v séru těhotných žen (15. -20. týden). Metoda: Ortho-Clinical Diagnostics Amerlex-M PAPP A (převzato z Chard 2005).

Gestační stáří (týdny)	Medián (nmol/l)	Interval 5. – 95. percentil (nmol/l)
15	3.98	2.21 - 6.82
16	4.47	2.54 – 7.85
17	5.07	2.89 – 8.91
18	6.45	3.67 – 11.33
19	7.46	4.25 – 13.10
20	8.87	5.05 – 15.58

Rovnice pro převody jednotek: $1 \text{ ng/l} = 288 \text{ nmol/l}$.

Interpretace výsledků

Snížení nekonjugovaného estriolu (uE3) v plazmě se vyskytuje u vrozených vývojových vad. Jeho stanovení se využívá, spolu se stanovením AFP a hCG, pro screening vrozených vývojových vad ve 2. trimestru těhotenství (15. – 18. týden). Výpočet rizika vrozené vývojové vady musí být prováděn genetikem za pomoci spolehlivého software.

Stanovení uE3 se též využívá pro posouzení fetoplacentární jednotky. Hladina estriolu závisí na dostupnosti fetálních prekurzorů (DHEAS) a míře jejich konverze v placentě, proto důsledkem poruch ovlivňujících tyto dva faktory je snížená hladina estriolu (tab. 17).

Tab. 17 Interpretace výsledků stanovení estriolu

Snížené hladiny
Vrozené vývojové vady
Anencefalie plodu (s neaktivní hypofýzou)
Placentární deficit sulfatázy

Zvýšené hladiny
Porodní komplikace
Fetální CAH

Literatura

1. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: I. General principles and second trimester testing. *Clinica Chimica Acta* 323 (2002) 1–16.
2. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. *Klinická biochemie a metabolismus* 1/2011, <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-vvv.pdf>
3. Goodwin, T.M. A role for estriol in human labor, term and preterm. *Am J Obstet Gynecol* 180 S208-S213 (1999).
4. Longcope, C.: Estriol production and metabolism in normal women. *J. Steroid Biochem.* 20(4B): 959-962, 1984.
5. Chard T: Pregnancy. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.

Gonadotropiny (FSH a LH)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Gonadotropiny (**folikuly stimulující hormon, folitropin [FSH] a luteinizační hormon, atropin [LH]**) jsou glykoproteiny vylučované specializovanými buňkami předního laloku hypofýzy (gonadotropy). Hrají zásadní roli ve vývoji a v řízení normálních funkcí ženského i mužského reprodukčního systému. LH je často využíváno ve spojení s dalšími testy (FSH, testosteron, estradiol a progesteron) jako **laboratorní vyšetření neplodnosti mužů i žen**. Dále je LH využíváno při sledování **menstruačních nepravidlostí** a vyšetření **abnormalit** některé části hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osy. **FSH** je užíván jako marker **poruch funkce hypofýzy** pro potvrzení primárního hypogonadismu u žen a při hledání příčin amenorey. U dětí jsou stanovení FSH v plazmě a bazálních hladin LH nebo po stimulaci exogenním gonadoliberinem, GnRH (GnRH test) indikována pro **vyšetření abnormalit v pubertě u obou pohlaví**.

Struktura

Molekula gonadotropinů je tvořena dvěma polypeptidovými, nekovalentně vázanými podjednotkami α a β . Zatímco podjednotka α je společná oběma gonadotropinům a dalším hormonům - tyrotropinu (TSH) a placentárnímu choriogonadotropinu (hCG), podjednotka β je pro každý hormon specifická a určuje jeho biologickou i imunologickou specifitu a tedy jeho účinek.

LH – molekulová hmotnost asi 28 kDa

FSH - molekulová hmotnost asi 30 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

Gonadotropiny jsou tvořeny v bazofilních buňkách předního laloku hypofýzy. Tato tvorba je ovlivňována složitým mechanismem pozitivních a negativních zpětných vazeb.

U dětí je vzhledem k nízké citlivosti hypofýzy vůči GnRH množství FSH i LH v periferní krvi velmi nízké. V období puberty se zvyšuje citlivost hypofýzy vůči GnRH a tím roste sekrece gonadotropinů. V jejím důsledku jsou gonády stimulovány k sekreci steroidů a dochází tak k rozvoji sekundárních pohlavních znaků. U mužů LH stimuluje syntézu testosteronu v Leydigových buňkách intersticiální tkáně varlat. U žen se působení vlivu LH projevuje v závislosti na fázi menstruačního cyklu. Ve folikulární fázi LH působí na theca buňky ovariálních folikulů, kde dochází jeho vlivem ke stimulaci produkce androgenů, jež jsou

následně, za přispění FSH, přeměňovány na estradiol. V pozdní folikulární fázi prudce stoupá sekrece estrogenů, dochází ke změně negativního zpětně vazebného mechanismu na pozitivní a v jeho důsledku k vzestupu hladin LH a FSH (ovulační pík). Přeměnou prasklého folikulu dojde k vytvoření corpus luteum, kde se vliv LH projevuje ve stimulaci produkce progesteronu. Po luteinizaci granulosaových buněk nastává sekundární vzestup hladin estrogenů společně s vrcholem progesteronu uprostřed luteální fáze. Koncem cyklu vymizí činnost žlutého tělíska, klesne tak koncentrace steroidů a tím se sníží rovněž jejich inhibiční působení na sekreci GnRH. Dochází k vzestupu sekrece gonadotropinů a nastává další menstruační cyklus. V menopauze, kdy jsou již postupně vyčerpány folikuly, nedochází k dřívější produkci steroidů a postupně tak vymizí negativní zpětná vazba, brzdící produkci gonadotropinů.

Gonadotropiny se z organismu vylučují močí, přičemž si zachovávají větší část své biologické i imunologické aktivity. U zdravých osob odpovídá jejich koncentrace v moči zhruba hladinám nacházeným v periferní krvi.

Biologická variabilita

Hladiny gonadotropinů jsou závislé na věku a pohlaví. U dětí jsou nízké, stoupají v pubertě do dospělosti. U fertálních žen se hladiny mění v průběhu menstruačního cyklu, proto je pro interpretaci výsledků nutno uvést den cyklu. V perimenopauzální periodě jsou zapotřebí opakovaná stanovení LH, např. tři stanovení po týdnu. Po menopauze jsou hladiny gonadotropinů (především FSH) výrazně vyšší.

Koncentrace gonadotropinů v krvi během dne mírně kolísá vlivem pulzního charakteru jejich sekrece (u LH zřetelnější než u FSH).

Biologický poločas

LH asi 30 min., FSH asi 180 min.

Preanalytika

LH

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: hemolýza, lipémie ani bilirubinémie nemají vliv větší než 10%
- vliv léků:
 - hladinu snižují: digoxin, analoga GnRH, megestrol, norethindron, orální kontraceptiva, fenothiazin, progesteron, stanozolol
 - hladinu zvyšují: antikonvulziva, klomifen, naloxon, spironolakton
 - u podávání estrogenů závisí efekt na dávce a trvání (vysoké dávky snižují, nízké zvyšují)
- další vlivy:
 - hladinu snižují: intenzivní dieta nebo prudký váhový úbytek
 - možnost zkřížených reakcí s hCG (např. u těhotných), nutné stanovení hCG ve stejném vzorku

FSH

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: nemají vliv: hemoglobin do 150 mg/dl, triacylglyceroly do 11,3 mmol/l, bilirubin do 340 μmol/l
- vliv léků: léčba monoklonálními protilátkami nebo expozice zvířecímu séru může ovlivnit výsledky imunochemického vyšetření

Referenční interval

Tab. 18 Hladiny LH

	Metoda: chemiluminiscence, Beckman Coulter (IU/l)
děti do 15 let	0,1-6,0
ženy -folikulární fáze	10,8-58,6
-luteální fáze:	1,20-8,6
ženy nad 50 let	10,8-58,6
muži nad 15 let	1,2-8,6

Tab. 19 Hladiny FSH

	Metoda: chemiluminiscence, Beckman Coulter (IU/l)
děti do 15 let	≤ 1,0
ženy -folikulární fáze	3,9-8,8
-luteální fáze:	1,8 – 5,1
Ovulační vrchol	4,5-22,5
ženy nad 50 let	16,7-113,6
muži nad 50 let	1,3-19,3

Interpretace výsledků

Vyšetření FSH a LH u žen může pomoci rozlišit mezi primárním selháním ovarií a sekundárním selháním ovarií (způsobeným onemocněním hypofýzy nebo hypothalamu). U primárního selhání ovarií jsou zvýšené hladiny obou gonadotropinů, naopak při hypothalamické dysfunkci (hypogonadotropní hypogonadismus, anorexia nervosa) je koncentrace LH snižená. Hladina LH může být nízká také v jiném případě nedostatečné funkce hypofýzy, např. při hypofyzárním tumoru. V případě nízké koncentrace LH je tedy třeba vyšetřit ostatní hypofyzární hormony. V některých případech (po operaci hypofýzy, v případě hypogonadotropního hypogonadismu) je užitečné doplnit gonadoliberinový test (gestogenový zátěžový test).

Tab. 20 Interpretace výsledků stanovení LH

Normální hladina LH	Snížená hladina LH	Zvýšená hladina LH
<ul style="list-style-type: none"> Syndrom polycystických ovarií (PCOS) 	<ul style="list-style-type: none"> hypotalamická dysfunkce (hypogonadotropní hypogonadismus, anorexia nervosa) hypofyzární tumor 	<ul style="list-style-type: none"> primární selhání gonád

Tab. 21 Interpretace výsledků stanovení FSH

Normální hladina FSH	Snížená hladina FSH	Zvýšená hladina FSH
<ul style="list-style-type: none"> Anatomický defekt 	<ul style="list-style-type: none"> hypotalamická dysfunkce (hypogonadotropní hypogonadismus, anorexia nervosa) 	<ul style="list-style-type: none"> primární selhání gonád

Literatura

- Robertson D. M., Hale G.E., Jolley D., et al. Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycles across reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, 94(1), 138-44.
- Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
- Marek J. Laboratorní diagnostika v endokrinologii. In: Zima T. (ed.). *Laboratorní diagnostika*. 2.vyd. Galén, 2007, pp 183-228.

Choriogonadotropin (hCG) a volná β -podjednotka (f β hCG)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Choriogonadotropin (hCG) je glykoproteinový hormon, tvoří se v placentě v průběhu těhotenství a dále u některých nádorů. Jeho stanovení se využívá **k určení těhotenství či jeho komplikací, pro screening vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací ve 2. trimestru těhotenství** a jako nádorový marker. Stanovení jeho volné β -podjednotky se využívá **pro screening vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací v 1. trimestru těhotenství**.

Struktura

Molekula hCG je heterodimerická a je tvořená dvěma polypeptidovými, nekovalentně vázanými podjednotkami α a β . Zatímco α -podjednotka je společná hCG a dalším hormonům FSH, LH a TSH, β -podjednotka je pro hCG specifická a určuje jeho biologickou i imunologickou specifitu a jeho účinek.

Molekulová hmotnost: 36.7 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

hCG vzniká po oplození vajíčka a je produkován trofoblastickými buňkami placenty. Objevuje se v krvi těhotné krátce po oplození a jeho hladina rychle vzrůstá do 8. týdne těhotenství.

V krvi i v moči se nachází jak intaktní molekula hCG, tak volné α - i β -podjednotky a štěpné produkty β -podjednotky: volná (free)- β a β -core. Biologicky aktivní je pouze kompletní, intaktní molekula hCG.

Přibližně 20 % intaktního hCG uvolněného do krevního oběhu se dostává do moče, zbytek podléhá metabolické degradaci. První degradační krok hCG spočívá ve ztrátě peptidové vazby ("nicking") mezi aminokyselinami 44 a 45 nebo 47 a 48 β -podjednotky, čímž dojde ke změně biologických vlastností hormonu. Disociace α - a β -podjednotky je dalším možným krokem degradace. β -podjednotka může být dále štěpena až na β -core fragment, složený z peptidů o aminokyselinové sekvenci 6–40 a 55–92 navzájem spojených disulfidickými můstky, s limitovaným množstvím sacharidové složky.

V 1. trimestru hCG udržuje žluté tělísko a podporuje produkci progesteronu a estrogenu. Ve 2. trimestru může být stimulujícím faktorem pro syntézu testosteronu v gonádách plodu

mužského pohlaví a působí na kůru fetálních nadledvin. Pravděpodobně se účastní i na vzniku imunotolerance plod – matka.

Biologická variabilita

Hladiny hCG jsou závislé na věku a pohlaví. U novorozenců jsou hladiny hCG u dívek podstatně vyšší než u chlapců.

Dále jsou závislé na přítomnosti menstruačního cyklu, nejvyšší hladiny byly nalezeny u postmenopauzálních žen.

V těhotenství hladina hCG rychle roste od oplození do 8. týdne. Mezi 8. a 12. týdnem se příliš nemění, poté klesá do 18. týdne a zůstává stabilní až do porodu. Hladina hCG ve fetální krvi se mění podobně, ale tvoří 2-3% koncentrace v krvi matky.

Biologický poločas

Aktivní intaktní hormon má poločas 40 hod, štěpený 11 hod, volná α -podjednotka 1,5 hod, volná β -podjednotka 4 hod, β -core fragment méně než 10 min.

Preanalytika

hCG

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- materiál: sérum
- vliv materiálu: není znám
- vliv léků: není znám
- další vlivy: nejsou známy

f β hCG

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- materiál: sérum
- upozornění: skladování krve před centrifugací nesmí nikdy překročit 6 hod.!
- vliv materiálu: nepoužívat hemolytické, ikterické nebo hyperlipemické vzorky
- vliv léků: není znám
- další vlivy: nejsou známy

Referenční interval

Měřitelné koncentrace hCG a volné β -podjednotky lze nalézt v séru a moči 50–70 % zdravých mužů a zdravých netěhotných žen.

Tab. 22 Hladiny hCG v těhotenství

	Metoda CLIA, hCG, Beckman Coulter (IU/l)
Netěhotné ženy	0 – 10
Těhotné ženy	
1. týden gestace	5-50
1.-2. týden gestace	50-500
2.-3. týden gestace	100-5000
3.-4. týden gestace	500-10000
4.-5. týden gestace	1000-50000
5.-6. týden gestace	10000-100000
6.-8. týden gestace	15000-200000
8.-12. týden gestace	10000-100000
2. trimestr	7000-100000
3. trimestr	2000-60000

Interpretace výsledků

Koncentrace hCG v séru mohou být ovlivněny především v těhotenství (mnohočetná gravidita, hrozící potrat, mimoděložní těhotenství, mola hydatidosa). Zdrojem zvýšených koncentrací hCG mohou být dále nádory germinativního a trofoblastického původu.

Při screeningu VVV a chromozomálních aberací ve 2 trimestru se hodnotí hladiny hCG společně s AFP a nekonjugovaným estriolem, musí být uvedeny i další faktory jako věk a hmotnost matky a přesné gestační stáří. Vyhodnocení provádí genetik za pomoci interpretačního software. Nejvhodnější interval pro provedení screeningu VVV ve 2. trimestru je 15. -19. týden gravidity.

Stanovení koncentrace volné β -hCG v krvi se uplatňuje především při včasné diagnostice trisomie 21 - Downova syndromu během 1. trimestru gravidity, kdy je poměr β -hCG/hCG přibližně 1 - 4 % zatímco ve 2. a 3. trimestru tento poměr klesne na 1 %. Stanovuje se spolu s PAPP-A a nuchální translucencí (NT), vyhodnocuje genetik s použitím speciálního software. Vyšetření volného β -hCG má význam i v onkologické diagnostice (nagonadální, gonadální a extragonadální choriokarcinomy, seminomy a jejich metastázy). Určitá část seminomů produkuje výhradně volnou β -podjednotku. Napomáhá také v rozlišení maligního a benigního trofoblastického nádoru (poměr β -hCG/hCG u maligních nádorů bývá vyšší než u nádorů benigních).

Stanovení samotné volné β –podjednotky hCG je ovlivněno nestabilitou intaktního dimeru: jak při pokojové teplotě, tak při 4° C hladina volné β –podjednotky narůstá, především ve

vzorku plné krve. Vzhledem k tomu, že volné β –podjednotky tvoří asi 1 % z celkového intaktního hCG, pak uvolnění malého množství této podjednotky disociací dimeru může výrazně zvýšit hladinu volné β –složky.

Tab. 23 Interpretace výsledků stanovení hCG

Zvýšená hladina
Mola hydatidosa
Myomy
Ovariální cysty
Nádory germinativního a trofoblastického původu

Snížená hladina
Mimoděložní těhotenství
Riziko potratu

Literatura

1. Montagnana M, Trenti T, Aloe R et al. Human chorionic gonadotropin in pregnancy diagnostics. Clin Chim Acta. 2011 Aug 17;412(17-18):1515-20.
2. Nicolaidis KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. Prenat Diagn. 2011 Jan;31(1):7-15.
3. Lain SJ, Algert CS, Tasevski V et al. Record linkage to obtain birth outcomes for the evaluation of screening biomarkers in pregnancy: a feasibility study. BMC Med Res Methodol. 2009 Jul 9;9:48.
4. Chard T: Pregnancy. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
5. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). Laboratorní diagnostika. 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.

Inhibiny

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Inhibiny jsou produkovány v ovariích u žen a ve varlatech u mužů. Regulují zpětnou vazbou syntézu folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a inhibuje jeho sekreci. Stanovení jejich koncentrace má význam při **diagnostice hormonálních reprodukčních poruch**.

Stanovení **inhibinu A** se využívá především v USA pro diagnostiku vrozených vývojových vad a chromozomálních aberací plodu (spolu s koncentracemi hCG, AFP a nekonjugovaného estriolu – quadruple test), pro diagnostiku preeklampsie a jako doplňkový nádorový marker pro diagnostiku a sledování léčby nádorů granulózových buněk vaječníků (společně s CA-125). Stanovení **inhibinu B** je využíváno především pro vyšetření plodnosti u mužů, stanovení ovariální rezervy u žen a diagnostiku a sledování postupu léčby nádorů granulózových buněk.

Struktura

Inhibiny A a B jsou glykoproteiny složené ze dvou proteinových podjednotek - α -podjednotky spojené disulfidickým můstkem s podjednotkou βA , respektive βB . Pouze heterodimery β vykazují biologickou aktivitu. V krevním oběhu se vyskytují také volné α -podjednotky, biologickou aktivitu však nevykazují.

Inhibiny patří do skupiny (transformujícího růstového faktoru β (TGF- β)). Tato skupina dále zahrnuje TGF- β , Antimülleriánský hormon (AMH) a další aktivní glykoproteiny.

Molekulová hmotnost inhibinů: 31 - 34 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

Inhibiny jsou u žen produkovány v granulózových buňkách vaječníků, inhibin A je také produkován v těhotenství žlutým tělískem a posléze placentou. U mužů jsou syntetizovány v Sertolihových buňkách varlat, jejich produkci stimulují androgeny. Parakrinní produkce inhibinů ve varlatech přispívá k regulaci spermatogeneze. U mužů se v krevním oběhu vyskytuje pouze inhibin B.

Na začátku puberty se aktivuje osa hypotalamus – hypofýza – gonády. V tomto období se rovněž zvyšuje koncentrace FSH, což vyvolá zvýšenou aktivitu vývoje folikulů a následně výrazný vzestup koncentrace inhibinu B v séru. V časných stádiích puberty spolu navzájem reprodukční hormony (LH, FSH, estradiol, Inhibin A, Inhibin B) pozitivně korelují – jejich koncentrace se s postupující pubertou zvyšují. Ve III. stadiu puberty (dle Tannerovy definice)

pozitivní korelace mezi koncentrací Inhibinu B a gonadotropiny zaniká. Ve IV. stadiu puberty se opět objeví silně pozitivní korelace mezi koncentrací FSH a inhibinu B, což odpovídá zvýšené sekreci jak FSH, tak inhibinu B ve folikulární fázi menstruačního cyklu. Při zvýšení koncentrace FSH začne dozrávat skupina antrálních folikulů, ze které je vybrán jeden tzv. „dominantní“ folikul. Tento „dominantní“ folikul začne produkovat inhibin B a estradiol, které potlačí produkci FSH v hypofýze. Jak inhibin B, tak estradiol ovlivňují pozitivní zpětnou vazbou tvorbu LH, jehož koncentrace se zvýší a vyvolá uvolnění vajíčka. Na počátku menopauzy začnou koncentrace inhibinu B pozvolna klesat. Pokles koncentrace inhibinu B vyvolá zvýšení sekrece FSH. Zvýšená sekrece FSH vede k tomu, že začne najednou dozrávat stále více folikulů, čímž se urychluje vyčerpání ovariální zásoby. Menopauza končí tehdy, když je ovariální zásoba vyčerpána.

Inhibiny přispívají k regulaci zrání folikulů a menstruačního cyklu u žen a ke správnému průběhu spermatogeneze u mužů. Jsou součástí osy hypotalamus – hypofýza – gonády, u obou pohlaví regulují formou negativní zpětné vazby produkci FSH, mechanismus produkce a zpětné vazby se u mužů a žen liší. Produkci inhibinu A zvyšuje též IGF-1 (Insuline like growth factor-1, inzulinu podobný růstový faktor-1). U žen hrají inhibiny významnou roli při vývoji a správném vyladění osy hypotalamus – hypofýza – gonády a také při růstu a vývoji ovárií. Přítomnost inhibinu B je nezbytná pro správný průběh menstruačního cyklu – společně s dalšími hormony (FSH, LH, AMH, estradiol, progesteron) umožňuje pravidelné a kontrolované cyklické dozrávání folikulů po celou dobu, kdy je žena v plodném věku.

Biologická variabilita

Hladiny inhibinu A závisí na pohlaví a věku, u žen jsou vyšší než u mužů. U žen jsou hladiny ovlivněny menstruačním cyklem a těhotenstvím. Produkce inhibinu A dosahuje svého vrcholu v polovině luteální fáze menstruačního cyklu. V těhotenství se hladina v 1. trimestru zvyšuje, pak postupně klesá až do 17. týdne, poté po zbytek těhotenství trvale stoupá.

Hladiny inhibinu B též závisí na pohlaví a věku. Po počátečním postnatálním vzestupu hladina inhibinu B prudce klesá, minima dosahuje mezi šestým měsícem a šestým rokem věku. U novorozenců dosahují stejných hodnot jako později v pubertě. Během fertilního období hladiny stoupají. V menopauze je koncentrace inhibinu B velmi nízká. Informace o cirkadiálním rytmu změn koncentrace Inhibinu B u žen nejsou k dispozici. Oproti tomu změny koncentrace v průběhu menstruačního cyklu jsou dokumentovány velmi podrobně. Sérové koncentrace jsou nejvyšší ve folikulární fázi cyklu, před ovulací klesají, výrazně vzrostou následně po růstu FSH při ovulaci a nejnižší jsou uprostřed a na konci luteální fáze cyklu.

Biologický poločas

Inhibin A: asi 40 min., Inhibin B: 1 hod.

Preanalytika

Inhibin A

- materiál: sérum
- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: není znám
- vliv léků: acetaminofen, ibuprofen, kyselina salicylová sérové hladiny neovlivňují

- další vlivy: nejsou známy

Inhibin B

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- materiál: sérum nebo heparinová plazma
- vliv materiálu: není znám
- vliv léků: není znám
- další vlivy: nejsou známy

Referenční interval

Inhibin A

Tab. 24 Hladiny inhibinu A u různých populačních skupin

Populační skupina	Metoda Access, Inhibin A, Beckman Coulter (pg/ml)
Ženy s normálním cyklem (počet dní od LH vlny)	
• Časná folikulární fáze (-14 až -10)	1,8 – 17,3
• Střední folikulární fáze (-9 až -4)	3,5 – 31,7
• Pozdní folikulární fáze (-3 až -1)	9,8 – 90,3
• Uprostřed cyklu (Den 0, LH vlna)	16,9 – 91,8
• Časná luteální fáze (1 až 3)	16,1 – 97,5
• Střední luteální fáze (4 až 11)	3,9 – 87,7
• Pozdní luteální fáze (12 až 14)	2,7 – 47,1
Ženy po menopauze	<1,0 – 2,1
Muži	<1,0 – 2,0

Rovnice pro převody jednotek: 1 IU/ml (WHO 91/624) = 26,7 pg/ml.

Tabulka 25 uvádí příklady koncentrace Inhibinu A v jednotlivých týdnech těhotenství pro využití ve screeningu vrozených vývojových vad.

Tab. 25 Hladiny inhibinu A v těhotenství (imunoanalytická metoda Access, Inhibin A, Beckman Coulter)

Dokončený gestační věk (týdny)	Počet vzorků ve sledovaném souboru	Regresní medián Inhibinu A (pg/ml)
15	81	150,9
16	126	143,1
17	106	139,3
18	103	139,8
19	90	145,5
20	58	154,8

Inhibin B

Tab. 26 Hladiny inhibinu B v různých populačních skupinách. Imunoanalytická metoda: ELISA, Inhibin B Gen II, Beckman Coulter

Populační skupina	Medián věku (roky)	Referenční interval (pg/ml)
Chlapci	11	4 – 352
Dívky	11	ND – 83
Muži	35	25 – 325
Ženy	30	ND – 341
Ženy po menopauze	74	ND – 4
Ženy – 3. den cyklu	32	ND – 273

ND – Nedetekovatelná hladina

Interpretace výsledků

Inhibin A

Tab. 27 Přehled zvýšených a snížených hodnot Inhibinu A u vybraných diagnóz

Zvýšená hladina
Některé typy předčasné puberty
Nádory granulózových buněk
Downův syndrom
Intrauterinní růstové omezení plodu
Riziko předčasného porodu
Mrtvý plod
Preeklampsie

Snížená hladina
Poruchy sexuálního vývoje u dětí
Předčasné ovariální selhání
Osteoporóza

Inhibin B

Tab. 28 Přehled zvýšených a snížených hodnot Inhibinu B u vybraných diagnóz

Zvýšená hladina
Některé typy předčasné puberty
Nádory granulózových buněk

Snížená hladina
Narušená funkce Sertoliho buněk
Menší objem tkáně varlat
Snížená sekrece spermií
Kryptorchismus a nejednoznačné genitálie
Kallmannův syndrom
Klinefelterův syndrom
Bilaterální orchidektomie
Předčasné ovariální selhání (POF)
Osteoporóza

Literatura

1. Byung Chul Jee, Seung Yup Ku, Chang Suk Suh, Ki Chul Kim, Won Don Lee, Seok Hyun Kim. Serum AMH and Inhibin B levels at ovulation triggering day can predict the number of immature oocytes retrieved in IVF. J. Korean. Med. Sci. 2008, 23, 657-661.
2. Gaudino R, Cavarzere P, Camilot M, et al. Prepubertal serum Inhibin B in cryptorchid infants and in monorchid boys with compensatory testicular hypertrophy. Fertil Steril. 2008, 90(6), 2217-21.
3. Chada M., Prusa R., Bronsky J., Kotaska K., Sidlova K., Pechova M., Lisa L.: Inhibin B, FSH, LH and Testosterone during childhood and puberty in males: changes in serum concentration in relation to age and stage of puberty. Physiol. Res. 2003, 52, 45-51.
4. Jamieson S, Fuller PJ: Management of granulosa cell tumour of the ovary. Curr Opin Oncol 2008, 20(5), 560-564.
5. La Marca A., Stabile G., Carducci Artensio A., Volpe A.: Serum AMH throughout the human menstrual cycle. Hum. Reprod. 2006, 21(12), 3103-3107
6. Mom CH, Engelen MJ, Willemse PH, et al: Granulosa cell tumors of the ovary: the clinical value of serum inhibin A and B levels in a large single center cohort. Gynecol Oncol 2007, May, 105(2), 365-372.
7. Phupong V., Hanprasertpong T., Honsawek S.: First trimester serum inhibin A in normal pregnant women. Arch Gynecol Obstet 2008, 277, 307-310.
8. Phupong V., Paiwattananupant K., Honsawek S.: Inhibin A levels and severity of preeclampsia. Arch Gynecol Obstet 2009, 280, 183-186.
9. Robertson D.M., Hale G.E., Jolley D., et al. Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycles across reproductive age. J Clin Endocrinol Metab. 2009, 94(1), 138-44.
10. Robertson DM, Pruyers E, Jobling T: Inhibin as a diagnostic marker for ovarian cancer. Cancer Lett 2007, 249,14-17.
11. Sehested A., Juul A., Holm Petersen J., Kold Jensen T., Muller J., Skakkeback N.E.: Serum Inhibin A and Inhibin B in healthy prepubertal, pubertal, and adolescent girls and adult women: relation to age, stage of puberty, menstrual cycle, FSH, LH and estradiol levels. J. Clin. Endocrinol. Metab 2000, 85(4), 1634-1640.
12. Sehested A., Juul A., Holm Petersen J., Kold Jensen T., Muller J., Skakkeback N.E.: Serum Inhibin A and Inhibin B in healthy prepubertal, pubertal, and adolescent girls and adult women: relation to age, stage of puberty, menstrual cycle, FSH, LH and estradiol levels. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000, 85(4), 1634-1640.
13. van Casteren N.J., van der Linden G.H., Hakvoort-Cammel F.G., et al. Effect of childhood cancer treatment on fertility markers in adult male long-term survivors. Pediatr Blood Cancer, 2009, 52(1), 108-12.
14. Welt C., Sidis Y, Keutmann H., Schneyer A.: Activins, inhibins, and follistatins: from endocrinology to signaling. A paradigm for the new millenium. Exp. Biol. Med 2002, 227(9), 724-752.

Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP A)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Plazmatický protein A spojený s těhotenstvím (PAPP A) se využívá spolu s dalšími markery pro screening chromozomálních aberací v 1. trimestru těhotenství. Může se též využít jako marker rizika preeklampsie.

Struktura

PAPP A je vysokomolekulární glykoprotein ze třídy metaloendopeptidáz. Molekula obsahuje atom zinku, který je aktivním místem skupiny metzincin z rodiny metaloproteináz. PAPP A cirkuluje jako komplex - tetramer $2 \cdot \text{PAPP A} + 2 \cdot \text{proMBP}$ (pro-forma hlavního bazického proteinu eozinofilů, major basic protein). V séru těhotných jsou tak přítomny dvě hlavní složky, PAPP-A (molekulová hmotnost $2 \cdot 200$ kDa) a proMBP ($2 \cdot 39$ kDa)

Molekulová hmotnost komplexu PAPP-A/proMBP: asi 480 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

PAPP A je syntetizován zejména syncytiotrofoblastem v placentě. Jeho syntéza je řízena progesteronem. Z placenty přechází do mateřské krve, kde je možné ho detekovat již 21 dní po početí. Není však specifický pouze pro těhotenství, jeho syntéza byla zjištěna ve žlutém tělísku, v ovariích a v endometriu, ale i u mužů v prostatě a v testes.

PAPP A proteolyticky štěpí IGF BP4 za přítomnosti IGF. Tyto růstové faktory hrají klíčovou roli ve vývoji ovariálních folikulů, především regulací FSH. IGF-BP4 také inhibuje produkci estradiolu. Proteázová aktivita PAPP A je inhibována proteinem pro-MBP.

Během těhotenství má PAPP A různé funkce. Podílí se na snižování koncentrace IGF-BP4 v mateřské krvi a na procesu zahnízdění vajíčka. Zřejmě má i stimulační účinek na růst osteoblastů, takže hraje roli v regulaci růstu obecně, podílí se i na tvorbě jizvy po zranění.

Biologická variabilita

Hladina PAPP A závisí na věku a pohlaví. Hladina proteinu je též ovlivněna těhotenstvím. V normálním těhotenství se začíná hladina zvyšovat od 7. týdne, nárůst je zpočátku téměř exponenciální, pokračuje během celého těhotenství. Po porodu hladiny zvolna klesají s poločasem 3-4 dny.

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- materiál: sérum nebo heparinová plazma, nelze EDTA plazma!
- vliv materiálu: není znám
- vliv léků: není znám

Referenční interval

Tab. 29 Hladiny PAPP A v séru v 1. trimestru těhotenství (8. – 14. týden). Metoda: Ortho-Clinical Diagnostics Amerlex-M PAPP A (převzato z Chard 2005).

Gestační stáří (týden)	Medián (mg/l)	25. – 75. percentil (mg/l)
8	1.86	0.89 – 3.15
9	3.07	1.66 – 6.33
10	5.56	2.98 – 10.1
11	9.86	5.74 – 15.0
12	14.5	9.90 – 27.5
13	23.4	14.1 – 34.6
14	29.1	19.5 – 38.4

Interpretace výsledků

U plodů s některými VVV (trizomie 21. nebo 18. chromozómu) bývají hladiny PAPP-A zejména v 1. trimestru významně snižené, po 12. týdnu se postupně přibližují normálu. V kombinaci se stanovením mateřských sérových hladin volné β -podjednotky hCG (zvýšení) a stanovením AFP (zvýšení) se tak dá dosáhnout senzitivity screeningu VVV v 1. trimestru více než 60% a specifity více než 90%. Screening vyhodnocuje genetik s použitím software. Podmínkou správného vyhodnocení testu je přesný údaj o gestačním věku.

Tab. 30 Přehled snížených a zvýšených hladin PAPP-1 u různých diagnóz

Snížené hladiny
Cromozomální aberace Trizomie 21, Trizomie 18 Trizomie 13
aneuploidie pohlavních chromosomů
Další VVV
Hrozící potrat
Mimoděložní těhotenství
Diabetes mellitus v graviditě
Preeklampsie

Zvýšené hladiny
Vícečetná těhotenství

Literatura

1. Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH et al. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*, Vol.33 (Suppl.), Febr 2012, S42–S47.
2. Bersinger NA, Marguerat P, Pescia G et al. *Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): measurement by highly sensitive and specific enzyme immunoassay, importance of first-trimester serum determinations, and stability studies.* *Reprod Fertil Dev.* 1995;7(6):1419-23.
3. Brochet C, Bakkouch A, Guillerme E et al. La pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, Vol 25, Issue 4, 2010, 212–218
4. Chard T: Pregnancy. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
5. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). *Laboratorní diagnostika*. 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.

Progesteron

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Progesteron je steroidní hormon ze skupiny progestagenů. Je využíván pro **diagnostiku poruch menstruačního cyklu, diagnostiku mimoděložního těhotenství a hrozícího potratu a při in vitro fertilizaci.**

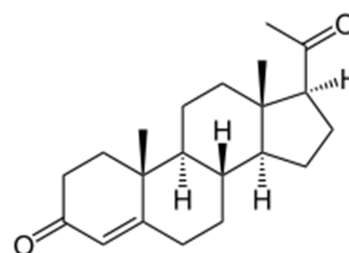
Struktura

Systematický název: 4-Pregnen-3,20-dion

Sumární vzorec: $C_{21}H_{30}O_2$

Strukturní vzorec: obr. 11

Molekulová hmotnost: 314.46 Da



Obr. 11 Strukturní vzorec progesteronu (zdroj: wikipedia.com)

Tvorba, metabolismus, funkce

Progesteron je syntetizován z pregnenolonu (obr. 2). Je substrátem pro syntézu 17α -hydroxyprogesteronu a androstendionu.

V malém množství je progesteron produkován kůrou nadledvin a u mužů Leydigovými buňkami varlat jako meziprodukt syntézy androgenů. U menstrujících žen je velké množství progesteronu produkováno žlutým tělískem vaječníků během folikulární fáze menstruačního cyklu. U těhotných je produkován placentou. V krvi cirkuluje jak volný, tak vázaný na albumin, transkortin a orosomukoid. Je metabolizován v játrech, močí se vylučuje jako pregnandiol.

Hlavní funkcí progesteronu u žen je příprava dělohy na implantaci vajíčka a udržení těhotenství. Během folikulární fáze zůstávají hladiny progesteronu nízké. Po vzestupu hladiny LH a ovulaci produkují luteální buňky v prasklém folikulu progesteron jako odpověď na sekreci LH, během luteální fáze - 5 až 7 dní po ovulaci - hladiny progesteronu rychle dosáhnou maxima. V průběhu luteální fáze progesteron přemění estrogenem připravené endometrium z proliferativního do sekretorického stadia. Pokud nedojde k oplodnění, hladiny progesteronu v důsledku regrese žlutého tělíska během posledních 4 dnů cyklu klesají. Pokud dojde k oplodnění, hladiny progesteronu jsou žlutým tělískem udržovány na

úrovni střední luteální fáze až do 12. týdne těhotenství. V tomto období se hlavním zdrojem progesteronu stává placenta.

Biologický poločas

25-50 hod.

Biologická variabilita

Hladiny progesteronu jsou závislé na věku a pohlaví. U žen jsou hladiny vyšší než u mužů.

Progesteron má významnou diurnální variabilitu. U fertálních žen jsou hladiny ovlivňovány i menstruačním cyklem a těhotenstvím. Jeho hladina v plazmě je nejvyšší 6. - 8. den po ovulaci, poté zvolna klesá a nejnižších hodnot nabývá 3 dny před menstruací. V těhotenství dochází k nárůstu progesteronu mezi 5. a 40. týdnem.

Referenční interval

V tabulce 31 jsou uvedeny hladiny progesteronu u různých populačních skupin.

Tab. 31 Přehled referenčních hodnot progesteronu.

	Metoda CLIA, Progesterone, Beckman Access (nmol/l)
Netěhotné ženy	
• střední folikulární fáze	0,98 – 4,83
• střední luteální fáze	16,4 – 59,0
• po menopauze	0 – 2,48
Těhotenství	
▪ první trimestr	15,0 – 161,3
▪ druhý trimestr	61,7 – 144,0
Muži	0,32- 2,67

Rovnice pro převod jednotek 1 nmol/l = 3,18 ng/ml.

Interpretace výsledků

Snížené hladiny progesteronu se vyskytují při poruchách ovulace. Pro diagnostiku insuficience žlutého tělíska se provádějí ve střední luteální fázi tři náběry vzorků s odstupem 3-4 dnů tak, aby bylo možné zhodnotit produkci progesteronu.

V centrech asistované reprodukce se hladiny progesteronu stanovují těsně před ovulací, kdy jejich nárůst indikuje, že ovulace proběhne.

Další poruchy se změněnými hladinami progesteronu jsou uvedeny v tabulce 33.

Tab. 32 Přehled zvýšených a snížených hladin progesteronu

Zvýšená hladina	Snížená hladina
Poruchy biosyntézy steroidů (defekt v aktivitě 17 α -hydroxylázy a 17-20 desmolázy) (muži)	Poruchy ovulace
	Insuficience žlutého tělíska (luteální insuficience)
	Riziko potratu či mimoděložního těhotenství
	Poruchy biosyntézy steroidů (defekt v aktivitě 20-22 desmolázy) (muži)

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv materiálu: nesmí být použity vzorky stabilizované azidem
- vliv léků:
 - hladinu zvyšují: klomifen, kortikoidy, dihydroprogesteron a hydroxyprogesteron, pregnandion
 - hladinu snižují: ampicilin, dinoprost, tromethamin, ethinylestradiol, orální kontraceptiva

Literatura

1. Robertson D. M., Hale G.E., Jolley D., et al. Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycles across reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, 94(1), 138-44.
2. Wheeler MJ. Infertility. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
3. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). *Laboratorní diagnostika*. 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.

Prolaktin (PRL)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Prolaktin (PRL) je polypeptidový hormon. Jeho hlavní funkcí je zahájení a udržení laktace, má vliv na vývoj mléčné žlázy. Je nezbytný pro normální reprodukční funkci obou pohlaví. Stanovení prolaktinu je využíváno pro **diagnózu hyperprolaktinémie** a pro monitorování následného léčení.

Struktura

Strukturálně je prolaktin podobný růstovému hormonu a placentárnímu laktogenu, což zřejmě vyplývá ze společného evolučního původu všech tří hormonů. V cirkulaci je pro prolaktin charakteristický molekulární polymorfismus. Vyskytuje se ve třech formách, jednak jako monomer ("malý" PRL) nebo jako polymery ("velký" a "velký-velký" PRL), s různými biologickými aktivitami. Polymerní formy imunologicky reagují podobně jako molekula monomerní. Z imunologicky prokazatelného PRL v krvi představuje "malý" PRL cca 80 %, "velký" 5-20 % a "velký-velký" PRL 0,5-5 %. V séru byly rovněž prokázány imunologicky aktivní produkty rozpadu PRL (tzv. "cleaved" PRL) s molekulovou hmotností 8 kDa až 16 kDa.

Molekulová hmotnost: cca 23 kDa.

Tvorba, metabolismus, funkce

Prolaktin je secernován především eosinofilními buňkami předního laloku hypofýzy. Jeho sekrece je regulována z hypotalamu. Dominantní úlohu zde sehrává inhibiční vliv dopaminergních neuronů, proti němu pak působí stimulační vliv serotoninergních neuronů. Hovoří se o dvou antagonisticky působících faktorech: inhibující - PIF ("Prolactin inhibing factor") a stimulační - PRF ("Prolactin releasing factor"). Inhibiční účinky má dopamin, také noradrenalin, acetylcholin nebo ergotaminové deriváty. Stimulačně působí například tyreoliberin (TRH), serotonin nebo melatonin, dále např. opiáty nebo tricyklická antidepresiva. Pozitivní vliv na sekreci prolaktinu mají estrogeny ať již účinkem inhibice syntézy dopaminu nebo přímou stimulací laktotropních buněk adenohipofýzy, obsahujících receptory estradiolu. Sekrece prolaktinu je rovněž pozitivně ovlivňována tzv. "sacím reflexem", tj. drážděním prsu během kojení, nebo fyzickým či psychickým stresem organismu.

Vedle periferní cirkulace se vyskytuje ve vysokých koncentracích také v plodové vodě a plodových obalech. O způsobu vylučování PRL je prozatím málo dostupných informací. Látky podobné prolaktinu byly nalezeny v moči.

Hlavní úloha PRL v organismu spočívá v iniciaci a stimulaci laktace. Během těhotenství dochází vlivem působení estrogenů k progresivnímu růstu koncentrace PRL v mateřském séru. Po porodu dochází u nekojících matek k poklesu koncentrace prolaktinu na normální hodnoty během 4 až 6 týdnů. U kojících matek je pokles podstatně delší (přiložení kojence k prsu stimuluje sekreci PRL). Biologická aktivita prolaktinu není zcela objasněna. Je znám inhibující vliv prolaktinu na sekreci gonadotropních hormonů, na funkci corpus luteum nebo snížení citlivosti hypotalamo-hypofyzární osy na podávání estrogenů. PRL rovněž ovlivňuje adrenální sekreci androgenů a jejich periferní metabolismus.

Biologický poločas

asi 15-20 min.

Biologická variabilita

Hladina prolaktinu závisí na pohlaví a věku. Ve fetálním séru je prolaktin detekovatelný okolo 80. dne gravidity, do 180. dne se jeho koncentrace podstatně nemění. U novorozenců po týdnu klesá koncentrace asi na 1/3 původní hladiny. Poté dále klesá až k normálním prepubertálním hodnotám. Během puberty je koncentrace PRL v krvi dospívajících dívek vyšší než u chlapců.

Koncentrace prolaktinu podléhá diurnálnímu rytmu. Dále závisí na těhotenství: během těhotenství se vlivem působení estrogenů koncentrace prolaktinu mění v závislosti na délce gravidity, dochází k velkému nárůstu sérové hladiny zvláště po 30. týdnu gravidity s maximem v době porodu, po porodu klesá k normálním hodnotám do 4 týdnů.

Preanalytika

- vzorek krve nabírat dopoledne, nejméně 3 hodiny po probuzení, optimálně mezi 8-10h.
- vliv materiálu: **nelze použít** EDTA plazmu nebo citrátovou plazmu
- vliv léků:
 - hladinu zvyšují: antagonisté dopaminu, látky uvolňující katecholaminy např. chlorpromazin, perfenazin, sulpirid, metoklopramid, domperidon, pinozid, haloperidol, alfametyldopa, reserpin, cimetidin, vysoká dávka estrogenů
- další vlivy:
 - hladinu zvyšují: fyzický nebo emoční stres, manipulace s prsy nebo zákroky na hrudním koši, pobyt v sauně apod.

Referenční interval

Tab. 33 Referenční interval prolaktinu pro různé populační skupiny

	Metoda: chemiluminiscence, Beckman Coulter (mIU/l)
ženy 15-50 let	100-810
ženy gravidní	250-4000
ženy nad 50 let	83-504
muži nad 15 let	80 – 403

Interpretace výsledků

Zvýšené hladiny prolaktinu (hyperprolaktinémie) mohou mít různé příčiny. Nejčastější příčinou hyperprolaktinémie je hypofýzo-hypotalamická porucha, zvaná Chiari-Frommel syndrom, v úvahu však přicházejí i další:

- tumory hypofýzy produkující prolaktin, nazývané **prolaktinomy**. Tyto nádory mohou produkovat i jiné polypeptidické hormony jako růstový hormon (akromegalie), ACTH nebo TSH,
- supraselární **tumory hypofýzy**, které negativně ovlivňují produkci a transport dopaminu,
- léze hypofyzární stopky** se stejným účinkem.

Jestliže byla hyperprolaktinémie potvrzena opakovaným vyšetřením a když bylo vyloučeno farmakologické zvýšení prolaktinu, je nutné provést pečlivé diagnostické vyšetření s ohledem na možný hypofyzární tumor (rtg selly, CT oblasti selly, kontrola zorného pole, stimulační a supresivní testy apod.). Pravděpodobnost výskytu tumoru hypofýzy se zvyšuje s hladinou prolaktinu.

U pacientů s prokázaným tumorem léčených chirurgicky nebo farmakologicky, je měření hladin prolaktinu důležitou součástí sledování účinnosti terapie. Vyšetřování a léčba těchto pacientů by měla být vždy vedena v úzké spolupráci s neuroendokrinology.

Hyperprolaktinémie je také ukazatelem poruchy dopaminergního přenosu u neuropsychiatrických onemocnění: snížený dopamin („PIF“) vede k hyperprolaktinémii.

Symptomy hyperprolaktinémie u žen jsou amenorea, oligomenorea, luteální insuficience, anovulace, galaktorea, hirsutismus.

U některých pacientů prolaktin cirkuluje vázaný na imunoglobulin – makroprolaktin. Není biologicky aktivní, způsobuje falešně vysoké výsledky.

Tab. 34 Interpretace výsledků stanovení prolaktinu

Zvýšené hladiny
Prolaktinomy
Další tumory hypofýzy
Léze hypofyzární stopky
Hypotyreóza
Hypertyreóza
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Renální insuficience
Akromegalie
Po operaci hypofýzy
Neuropsychiatrická onemocnění (porucha dopaminergního přenosu)

Literatura

1. Wheeler MJ. Infertility. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
2. Živný J, Fait T, Malbohan M. Laboratorní diagnostika v gynekologii a porodnictví. In: Zima T. (ed.). Laboratorní diagnostika. 2.vyd. Galén, 2007, pp 409-511.
3. Bernichtein S, Touraine P, Goffin V. New concepts in prolactin biology. J Endocrinol. 2010 Jul;206(1):1-11.

Sexuální hormony vázající globulin (SHBG)

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Základní charakteristika

Sexuální hormony vázající globulin (SHBG) je nejvýznamnějším transportním proteinem některých estrogenů a androgenů v krvi a zároveň hlavním faktorem regulujícím jejich distribuci mezi volnou a vázanou formou hormonu. Stanovení (spolu s testosteronem) je zejména indikováno při podezření na hyperandrogenní syndrom (hirsutismy, virilismy, syndrom polycystických ovarií) a při kontrole jeho terapie – hladina SHBG slouží k výpočtu indexu volného androgenu. Dále se stanovuje při poruchách citlivosti na inzulín a podezření na hypotyreózu.

Struktura

SHBG je glykoprotein, molekulová hmotnost 80-100 kDa.

Tvorba, metabolismus, funkce

SHBG je tvořen převážně v játrech, jeho exprese byla prokázána i v mozku, děloze, varlotech a v placentě. Jeho tvorba je řízena souhrou faktorů stimulačních (estrogeny, růstový hormon, tyroxin) a inhibičních (androgeny, inzulín, IGF-1).

SHBG selektivně váže mužské a ženské pohlavní hormony, jejichž společným znakem je přítomnost 17 β -hydroxyskupiny. Afinita vůči těmto steroidům klesá v řadě dihydrotestosteron- testosteron- estradiol. Např. testosteronu v krvi je vázán na SHBG z 44-78%, na albumin z 20-50%; poměr testosteronu vázaného na SHBG a albumin je u mužů a žen rozdílný.

Androgeny tvorbu SHBG snižují, estrogeny ji zvyšují. To má za následek, že nerovnováha mezi androgeny a estrogeny vede k tomu, že při relativním nadbytku estrogenů SHBG vyváže přednostně androgeny a je zdůrazněna estrogení složka. Naopak při převaze androgenů je tvorba SHBG potlačena a volná, na SHBG nevázaná frakce androgenů, je zvýšená (u syndromu polycystických ovarií).

Biologický poločas

7 dní

Biologická variabilita

Hladiny SHBG závisí na věku a pohlaví.

Podléhají diurnálnímu vlivu. U žen ve fertlím věku hladiny závisí na fázi cyklu, kde sledují hladiny estrogenů. V menopauze je hladina nižší. V těhotenství se hladina vlivem vzestupu estrogenů zvyšuje.

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6. a 8. hodinou
- vliv léků:
 - hladinu zvyšují: antiepileptika, orální antikoncepce
- další vlivy:
 - hodnoty snižuje: obezita (zvláště s abdominální lokalizací tuku), fyzická zátěž
 - hodnoty zvyšuje: hladovění, kouření, vegetariánská výživa (muži), redukce hmotnosti

Referenční interval

Tab. 35 Referenční interval SHBG.

	Metoda CLIA, SHBG, Architect i1000 SR, Abbott (nmol/l)
děti 2-4 let	55-66
děti 11-14 let	80-100
ženy nad 18 let	20-155
muži nad 18 let	14-71

Interpretace výsledků

Na koncentraci SHBG má vliv celá řada různých onemocnění.

SHBG bývá zvýšen u hypertyreózy a snížen u hypotyreózy, jelikož hladiny tyroidálních hormonů s SHBG pozitivně korelují. U subklinických stavů, kde jsou změněny pouze hladiny tyreotropinu (TSH)-sníženy u hyper- a zvýšeny u hypotyreózy, může stanovení SHBG sloužit jako doplňující laboratorní ukazatel.

Hladiny SHBG významně negativně korelují s hladinami inzulínu. U žen s poruchou inzulínové senzitivity s hyperinzulinémií, časté u obézních osob, je často hirsutismus, což je dáno sníženými hladinami SHBG a následným zvýšením volných androgenů. Typickým znakem PCOS je právě snížená periferní citlivost na inzulín vedoucí ke zvýšení volných androgenů.

SHBG může být indikátor nadměrného nebo chronického účinku androgenů, kdy je hladina androgenů normální, ale jsou přítomny klinické symptomy nadbytku androgenů.

SHBG je vhodným doplňkovým parametrem při stanovení androgenů, kdy je pravděpodobná relativně vysoká koncentrace volných androgenů.

Stanovení SHBG může napomoci při správných interpretacích sérových koncentrací testosteronu a estradiolu, při posuzování rovnováhy mezi androgeny a estrogyeny u pacientů s gonadální a sexuální dysfunkcí, příp. při zhodnocení rizika inzulínové rezistence a kardiovaskulárních chorob.

Tab. 36 Snížené a zvýšené hladiny SHBG

Snížená hladina SHBG
Hirsutismus, virilismus
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Subklinická hypotyreóza
Hyperprolaktinémie
Poruchy citlivosti na inzulín
Myxedém

Zvýšená hladina SHBG
Hypogonadismus
Androgenová insenzivita
Hypertyreóza (i subklinická)
Cirhóza jater (u mužů)

Literatura

1. Bhattacharya SM, Ghosh M. Insulin resistance and adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2010 Jun;23(3):158-61.
2. Drbalová K, Matucha P, Matejková-Behanová M et al. Immunoprotective steroids and SHBG in non-treated hypothyroidism and their relationship to autoimmune thyroid disorders. *Physiol Res.* 2008;57 Suppl 1:S119-25.
3. Hammond GL. Diverse roles for sex hormone-binding globulin in reproduction. *Biol Reprod.* 2011 Sep;85(3):431-41.
4. Kajaia N, Binder H, Dittrich R et al. Low sex hormone-binding globulin as a predictive marker for insulin resistance in women with hyperandrogenic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):499-507.
5. Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook.* 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.

Testosteron

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Testosteron je nejdůležitější steroidní hormon ze skupiny mužských pohlavních hormonů, androgenů. Má nejsilnější androgenní účinky. Jeho stanovení se využívá k diferenciální diagnostice u ovariálních poruch, poruch menstruačního cyklu, hirsutismu, nádorů ovarií a dalších.

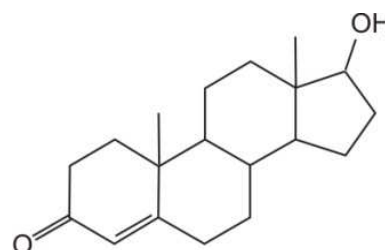
Struktura

Systematický název: 17 β -hydroxy-4-androsten-3-on.

Sumární vzorec: C₁₉H₂₈O₂

Strukturní vzorec: obr. 12

Molekulová hmotnost: 288 Da



Obr. 12 Strukturní vzorec testosteronu
(zdroj: wikipedia.org)

Tvorba, metabolismus, funkce

Existují dva mechanismy biosyntézy testosteronu: přeměnou z pregnenolonu přes dehydroepiandrosteron (DHEA), nebo z progesteronu a androstendionu (obr. 2).

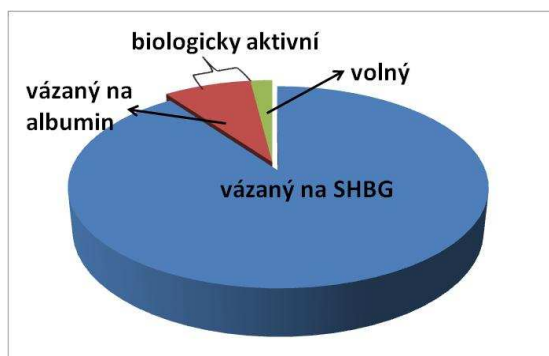
U mužů je testosteron syntetizován především v Leydigových buňkách varlat a v menší míře v kůře nadledvin. U premenopauzálních žen je testosteronu produkován především ve vaječnících a v menší míře též v nadledvinách, okolo 50% testosteronu však vzniká konverzí androstendionu v periferních tkáních. Po menopauze se produkce testosteronu ve vaječnících výrazně snižuje. Produkce testosteronu ve varlatech a vaječnících je regulována pomocí hypofyzární gonadální mechanismu zpětné vazby zprostředkované luteinizačním hormonem (LH) a v menší míře též inhibitory a aktiviny.

Cirkulující testosteron slouží jako prekurzor pro vytvoření dvou typů aktivních metabolitů, dihydrotestosteronu a estradiolu. 6 - 8% testosteronu je přeměněno na dihydrotestosteron (DHT) pomocí 5 α -reduktázy. DHT vzniká v cílových tkáních androgenů, jako je kůže, prostata, vlasové folikuly a nadledviny. Ostatní metabolity testosteronu vykazují nízké androgenní účinky. Přibližně 0,3% testosteronu je přeměněno na estradiol.

Testosteron cirkuluje v plazmě ve volném stavu (2 – 3%) nebo ve vazbě na plazmatické bílkoviny. Vazebné proteiny jsou SHBG (sexual hormone binding globulin) a albumin. SHBG je α -globulin, který má nízkou vazebnou kapacitu pro steroidy, avšak vysokou vazebnou afinitu

ke steroidům. Albumin má vysokou vazebnou kapacitu, ale nízkou afinitu. U mužů je přibližně 60% testosteronu vázáno na SHBG a 40% na albumin. U žen je na SHBG vázáno přibližně 70% a 29% na albumin (obr. 13). Biologicky aktivní je volný testosteron a testosteron vázaný na albumin.

Obr. 13 Rozdělení testosteronu v krvi žen: -vázaný na SHBG (70%), - vázaný na albumin (29%), -volný (1%)



Testosteron se odbourává hlavně v játrech, kde se tvoří androsteron a eticholanolon. Tyto dva metabolity patří k 17-ketosteroidům a jsou vylučovány z více než 90% močí.

Míra produkce testosteronu v krvi je odhadována na 3,7 mg/den u mužů a 0,04 mg/den u žen.

Testosteron je hlavní androgenní hormon, dostatečná sekrece testosteronu je nezbytná pro normální mužskou reprodukční funkci. Během rané embryogeneze je testosteron společně s AMH zodpovědný za vývoj plodu mužského pohlaví. U mužského plodu začínají Sertoliho buňky varlat vylučovat AMH, zatímco v Leydigových buňkách se tvoří androgeny. Androgeny způsobují přeměnu Wolffových vývodů na mužské vnitřní pohlavní ústrojí. AMH vyvolává nevratnou regresi Müllerových vývodů. Po narození se u chlapců objevuje první vlna produkce testosteronu, která končí kolem prvního roku života. Během puberty se sekrece testosteronu výrazně zvyšuje a zůstává na vysoké úrovni po celý zbytek života.

Účinky testosteronu jsou prokazatelné více u mužů než u žen, ale je jisté, že správná produkce je důležitá pro obě pohlaví. U mužů i žen testosteron stimuluje růst pubického ochlupení, ovlivňuje koncentraci některých enzymů v ledvinách, stimuluje erytropoézu a zvyšuje libido, soutěživost a agresivitu, hraje důležitou roli v nárůstu svalové hmoty a při prevenci osteoporózy. U mužů je přiměřená sekrece testosteronu nezbytná pro normální vývoj spermií, funkci prostaty a potenci.

Biologický poločas

30 – 60 min.

Biologická variabilita

Hladina testosteronu závisí na věku a pohlaví. Testosteron podléhá diurnálním variacím, které mají vliv na výsledek zejména při hladinách nižších než 0,3 ng/ml.

Preanalytika

- Vzorke krve nabírat ráno mezi 8.-10. hod.
- Hladiny testosteronu během dne kolísají, proto je vhodné použít k vyšetření 3 náběry provedené během 1 hodiny mezi 8.-10. hod. a stanovení provést ze směsného séra.
- Vliv materiálu: nepoužívat hemolyzované vzorky
- U dětí a u žen musí být vždy současně provedeno i vyšetření DHEAS k odlišení adrenálního a gonadálního původu nadbytku androgenů
- Vliv léků: snížené hodnoty způsobují antifungicidní léky (ketokonazol)
- Další vlivy:
 - Zvýšení hladiny způsobuje: fyzická zátěž, tepelná zátěž, obezita, kouření
 - Snížení hladiny způsobuje: závažné onemocnění, zejména jaterní, ledvinové, oběhové, stres, anestezie, drogy (heroin, metadon)

Referenční interval

Hladiny celkového a volného testosteronu u různých populačních skupin jsou uvedeny v tabulce 37, respektive 38.

Tab. 37. Hladiny celkového testosteronu

	Metoda: RIA, Total Testosterone, Immunotech (ng/ml)
novorozenci	
chlapci	0,75 - 4,0
dívky	0,2 - 0,64
děti věk 15 – 17 let	
chlapci	2,65 - 8,0
dívky	0,1 - 0,4
dospělí	
muži	2,8 - 12,0
ženy	0,07 - 0,7
těhotné ženy	0,45 – 2,8
ženy po	0,8 - 0,35

Tab. 38 Hladiny volného testosteronu

	Metoda: RIA, Free Testosterone, Immunotech (pg/ml)
novorozenci	
chlapci	1,5 - 31
dívky	4,0 - 16
děti věk 15 – 17 let	
chlapci	80 - 159
dívky	1,0 – 5,2
dospělí	
muži	50 - 210
ženy	1,0 - 8,5

Rovnice pro přepočítání jednotek: 1 nmol/l = 3,47 ng/ml.

Index volného testosteronu

Skutečný stav androgenů v séru lze určit buď měřením volného testosteronu nebo pomocí výpočtu celkového testosteronu (TT) a koncentrace SHBG. Volný testosteron lze poměrně přesně vypočítat z hodnot celkového testosteronu a SHBG. Příslušný vzorec, který zahrnuje asociační konstanty pro vazbu testosteronu na SHBG a albumin, lze najít v práci Vermeulena a spol. 1999. Přibližnou hodnotu volného testosteronu udává tzv. index volného testosteronu - Free Androgen Index (FAI) nebo Testosterone Free Index (TFI).

$$\text{FAI} = \text{TT (nmol/l)} / \text{SHBG (nmol/l)} \times 100$$

Zvýšené hodnoty FTI bývají u žen s hirsutismem, syndromem polycystických ovárií, u postmenopauzálních žen bez medikace.

Snížené hodnoty FTI se vyskytují u mužů s hypoandrogenismem a gynekomastií, u jedinců s vysokými hladinami estrogenu buď přirozeného původu, nebo po medikaci, u starších mužů

Interpretace výsledků

Celkový testosteron slouží jako **primární ukazatel produkce androgenů**. V případech podezření na poruchy vazebnosti testosteronu (tab. 39) na SHBG se doporučuje měření volného testosteronu nebo současné měření SHBG a výpočet indexu volného testosteronu. (Pozn.: Výpočet FAI však není vhodné provádět u gravidních žen.)

Tab. 39 Podmínky, za kterých je vhodné stanovit hladinu volného testosteronu

Léčba kortikoidy a pohlavními hormony Dědičné vazebné abnormality SHBG Hodnocení neplodnosti u mužů Určení etiologie hyperandrogenizmu u žen Opožděná puberta u chlapců a mírný hypogonadismus u mužů Diagnóza adrenopauzy Obezita
--

Testosteron se často měří ve spojení s dalšími androgeny, jako jsou DHEA/DHEA-S, androstendion, 17 α -hydroxyprogesteron, SHBG a gonadotropiny (LH a FSH) k hodnocení reprodukčních abnormalit u mužů, dětí i žen.

Tab. 40 Přehled zvýšených a snížených hodnot testosteronu u vybraných diagnóz

Zvýšená hladina
Předčasná puberta u dívek
Menstruační poruchy
Amenorea
Neplodnost
Anorexia nervosa
Syndrom polycystických ovarií (PCOS)
Idiopatický hirsutismus
Trofoblastická nemoc v těhotenství
Hypertyreóza
Testikulární feminizace
Nádory vaječníků nebo nadledvin
Kongenitální adrenální hyperplasie (CAH)
Adrenální hyperplasie u chlapců
Předčasná puberta u chlapců
Akné
Nádory varlat u mužů
Adrenální nádory u mužů
Inzulinové rezistence

Snížená hladina
Opožděná puberta u chlapců
Primární testikulární poruchy
Klinefelterův syndrom
Hermafroditismus
Poruchy biosyntézy androgenů
Nesestoupená varlata
Testikulární trauma nebo ischemie
Infekce - příušnice
Autoimunitní onemocnění
Metabolické poruchy (hemochromatóza, selhání
Orchidektomie
Sekundární a terciární testikulární poruchy
Panhypopituitarismus (vrozený nebo získaný)
Hypotalamické syndromy (vrozené nebo získané)
Kallmannův syndrom (nedostatek GnRH)
Nádory hypofýzy či hypotalamu

Literatura

1. Alan H.B. WU, PhD, DABCC, FACB: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2006, 1010-1015
2. Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.A.: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2006, 2097-2104
3. <http://en.wikipedia.org/wiki/Testosterone>
4. Raff H, Sluss PM. Pre-analytical issues for testosterone and estradiol assai. *steroids* 73 (2008) 1297–1304
5. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple method for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 3666-72, 1999.
6. Vierhapper H., Nowotny P., Waldhäusl W.: Determination of testosterone production rates in men and women using stable isotope/dilution and mass spectrometry, *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(5):1492-6.
7. Westphal U.: *Steroid_Protein Interactions*, Berlin, Springer-Verlag, 1986
8. Wheeler MJ. Hirsutism and virilization in the female. In: Wild, D. (Ed.) *The Immunoassay Handbook*. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.

Tyreoidální hormony

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Mezi tyreoidální hormony jsou zařazeny jak hormony vylučované štítnou žlázou (trijodtyronin, T3 a tyroxin, T4), tak i hormon přímo regulující jejich syntézu (tyreotropin, TSH). Jejich tvorba je řízena zpětnovazebným systémem hypotalamus-hypofýza-štítná žláza.

Tyreotropin (TSH)

Základní charakteristika

Tyreotropin (TSH) neboli tyreostimulační hormon je jedním z hlavních faktorů v regulaci biosyntézy hormonů štítné žlázy. Je nezbytný pro normální vývoj a růst organismu. Jeho stanovení se využívá pro jako **primární test funkce štítné žlázy** a pro **screening poruch funkce štítné žlázy**.

Struktura

TSH patří do skupiny glykoproteinových hormonů (jako prolaktin, FSH, LH, hCG), které mají společnou α podjednotku, ale odlišné sekvence aminokyselin a oligosacharidů v β podjednotce, takže mají odlišnou biologickou aktivitu.

Molekulová hmotnost: 29 kDa

Tvorba, metabolismus, funkce

TSH je produkován tyreotropními (bazofilními) buňkami v předním laloku hypofýzy. TSH lze nalézt v organismu v krevním oběhu, v hypofýze a tkáni štítné žlázy. Je metabolizován periferními tkáněmi a vylučován játry a ledvinami.

Ve štítné žláze TSH stimuluje produkci tyreoidálních hormonů trijodtyroninu (T3) a tyroxinu (T4): stimuluje tyreoidální folikulární buňky, aby vychytávaly jód z krevního oběhu. Jód je posléze aktivován a inkorporován do tyrosinových zbytků molekuly glykoproteinu tyreoglobulinu (Tg). Tento proces je katalyzován enzymem tyreoidální peroxidázou (TPO). Jodovaný Tg je rezervoárem tyreoidálních hormonů T3 a T4. Po stimulaci TSH se Tg dostává endocytózou přes apikální membránu do folikulárních buněk, kde je štěpen lysozomálními enzymy, přičemž se uvolňují tyreoidální hormony, jež poté přecházejí do krevního oběhu. Současně vzniklé mono- a diiodotyroniny jsou opracovány přítomnými dejodázami .

Produkce TSH je řízena negativní zpětnou vazbou, která udržuje konstantní hladinu volných tyreoidálních hormonů v séru.

Biologický poločas

Okolo 54 min. u zdravých osob, delší u hypertyreoidismu a renální insuficience.

Biologická variabilita

Hladiny TSH podléhají diurnálnímu rytmu. Během I. trimestru těhotenství se hladina může měnit.

Preanalytika

- vzorek krve nabírat ráno mezi 6.- 8. hod., nalačno
- vliv léků
 - Snížení hladin způsobují: glukokortikoidy, somatostatin a jeho analogy, apomorfin, dopamin, verapamil, difenylhydantoin, heparin, karbamazepin, cyproheptadin
 - Zvýšení hladin způsobují: amiodaron, chlorpromazin, haloperidol, metoclopramid, kломifen, bicyklická antidepresiva, preparáty s obsahem jódu
- další vlivy
 - Zvýšení hladin: po tělesné námaze, po diagnostickém vyšetření s radioaktivním jódem

Referenční interval

Metoda RIA (Immunotech)

0,3-4,0 mU/l

Interpretace výsledků

U primární hypotyreózy štítná žláza neprodukuje dostatek T4 a tedy vzroste produkce TSH - hladina cirkulujícího TSH je zvýšená. Těž je zvýšená u kongenitální hypotyreózy u novorozenců. U sekundární hypotyreózy může být koncentrace TSH nízká nebo normální či lehce zvýšená, ale je spojena s nízkou hladinou T4.

V případě hypertyreózy zvýšené hladiny T3 a T4 a způsobují potlačení produkce TSH – hladina cirkulujícího TSH je snižena.

TSH využívá také jako doplňkové vyšetření k volnému T4 u sekundární hypotyreózy a ke stanovení volného T4 a volného T3 při podezření na rezistenci na tyreoidální hormony, u hypercholesterolemie a u hyperprolaktinémie.

Stanovení TSH se konkrétně využívá pro:

- potvrzení či vyloučení poruch štítné žlázy při amenoree či snížené plodnosti
- screening poruch funkce štítné žlázy v těhotenství v 1. nebo 2. trimestru

- screening poporodní tyreoiditidy 6 týdnů a 6 měsíců po porodu
- screening kongenitální hypotyreózy ze suché kapky krve novorozence
- screening tyreopatii u autoimunních onemocnění
- diagnostiku a monitoraci poruch štítné žlázy (i subklinických)

TSH má za předpokladu intaktní hypotalamo-hypofyzární osy logaritmický vztah s volným T4, což znamená, že jen malá změna T4 se projeví 10x větší změnou TSH.

Tab. 41 Přehled některých onemocnění se sníženými, normálními či zvýšenými hladinami TSH

Snížená hladina TSH	Normální hladina TSH	Zvýšená hladina TSH
<ul style="list-style-type: none"> • Primární hypertyreóza • Sekundární hypotyreóza • Akromegalie • Cushingův syndrom • mentální anorexie • sekundární amenorea • opožděná puberta • Klinefelterův syndrom • endogenní deprese • chronická insuficience ledvin • jaterní cirhóza • těžké celkové onemocnění 	<ul style="list-style-type: none"> • eutyroidní • Sekundární hypotyreóza • Poruchy funkce hypotalamu či hypofýzy • T3 toxikóza 	<ul style="list-style-type: none"> • Primární hypotyreóza • Kongenitální hypotyreóza • Tyroidita typu Hashimoto • Subklinická hypotyreóza • Hypofyzární tumor

Hormony štítné žlázy (tyreoidální hormony)

Tyroxin (T4) a trijodtyronin (T3), volný T4 a volný T3

Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.

Základní charakteristika

Štítná žláza produkuje prohormon **tyroxin (T4)**, z kterého je dále syntetizován **trijodtyronin (T3)**. Většina hormonů štítné žlázy cirkulujících v krvi je vázána na transportní bílkoviny a tudíž je biologicky inaktivní. Biologickou aktivitu vykazuje jen malá část hormonů (0.1 – 0.3%), která se v krvi vyskytuje ve volné formě (**volný T3 (fT3)** a **volný T4 (fT4)**). Tyreoidální hormony jsou nezbytné pro růst, vývoj a metabolismus organismu.

Struktura

T4

T4 je aromatická aminokyselina, molekula obsahuje čtyři atomy jodu (3,5,3',5'-tetrajodtyronin). Molekulová hmotnost 777 Da. Základem tyroxinu je nejodovaná sloučenina tyronin, ve které je charakteristické difenyletherové seskupení. Tyroxin vzniká sloučením dvou diiodinovaných tyreoninových molekul, kdy atomy jodu vstupují do poloh 3,5,3'a 5' obou fenolových jader.

T3

Molekula T3 ($C_{15}H_{12}I_3NO_4$) obsahuje tři atomy jódu. Je derivována z T4 deiodací. (extratyroidálně, ve tkáních, např. játrech)

Tvorba, metabolismus, funkce

T4 a část T3 (asi 20%) jsou tvořeny ve folikulárních buňkách štítné žlázy z tyreoglobulinu (Tg). Tg obsahuje řadu reaktivních tyrosylových zbytků, které se jodují. Při stimulaci štítné žlázy pomocí TSH se Tg enzymaticky štěpí a T4, případně T3, se vylučují do krevního oběhu. Organismus dokáže vytvářet T4 nebo T3 jen když má v potravě dostatek jodu.

Většina T3 (80%) se tvoří extratyroidálně monodeiodací T4, která je katalyzována 5'-deiodinázovými enzymy.

Metabolická aktivita T3 jako pravého hormonu je přibližně čtyřikrát větší než aktivita T4, avšak T3 tvoří 20% a T4 tvoří 80% z celkové produkce tyreoidálních hormonů. Vzhledem

k tomuto faktu a k delšímu biologickému poločasu T4 je hladina T4 v krvi přibližně čtyřikrát vyšší než T3.

T4 i T3, které opouští štítnou žlázu, se v krvi váží na transportní bílkoviny. 78 % T4 je vázáno na globulin vázající tyroxin (TBG), 18 % na prealbumin a 4 % na albumin. Jen 0,02 - 0,05 % se nachází v séru ve volné formě a je biologicky aktivní. T4 a jeho štěpné produkty vážou v játrech na kyselinu glukoronovou a dostávají se do žluči. Pro hospodaření s jodem je důležité, že se z jodovaných metabolitů uvolňuje jod specifickou dejodázou a jako jodid se vrací do štítné žlázy.

T4 a T3 jsou nezbytné pro fyzický a mentální vývin a růst organismu.

V prenatálním životě a u dětí je to především vývoj CNS a růst kostí. Zastavení nebo snížení funkce štítné žlázy při produkci hormonů vede k těžkým poruchám ve vývoji a růstu (kretenismus).

V dospělém organismu hormony štítné žlázy ovlivňují celkový metabolismus, tj. syntézu proteinů, spotřebu kyslíku a další. Poruchy v produkci hormonů štítné žlázy se projevují v bazálním metabolismu: při hyperfunkci je produkce hormonů štítné žlázy zvýšena, při hypofunkci je snížena.

Biologický poločas

T4 6,5 dnů, T3 2,5 dnů

Biologická variabilita

T3

Během těhotenství může docházet ke zvýšení hladin T3 v průběhu 3. trimestru asi na 1,5násobek normy. V prvním týdnu po porodu klesají hladiny opět k normálu.

U starších lidí jsou hladiny T3 o 10-50% nižší než u mladší populace.

Koncentrace T3 jsou závislé mimo tyroidální sekrece a vazby na transportní proteiny také na periferní konverzi T4 na T3. Pokud je tato konverze snížena, snižují se též hladiny volného T3. Příčinou může být:

- těžké celkové onemocnění
- vysoký věk pacienta
- užívání léků (glukokortikoidy, propranolol, amiodaron).

Preanalytika

- Odběr krve pro stanovení tyreoidálních hormonů by se měl provádět nejméně 12h, lépe však 24h po poslední medikaci
- Vzorek krve nabírat ráno mezi 8.-10. hod.

T4

Hladiny T4 mohou být ovlivněny závažným onemocněním, které je lokalizováno mimo štítnou žlázu, nebo některými léky:

- zvýšení: léky vytěsňující fT4 z vazby na transportní bílkovinu (furosemid, nesteroidní antirevmatika, salicyláty) a heparin,
- snížení: léky zvyšující metabolizaci T4 v játrech (carbamazepin, fenytoin, fenobarbital), a rifampicin.

Vysoké anti-Tg protilátky mohou falešně zvyšovat FT4

Referenční interval

T4

Metoda RIA, Immunotech

Dospělí 11,5- 23,0 pmol/l

T3

Metoda RIA, Immunotech

Dospělí 2,5-5,8 pmol/l

Klinické využití

Větší výpovědní hodnotu než stanovení celkového tyroxinu TT4 a celkového trijodtyroninu TT3 má **stanovení volného tyroxinu fT4 a volného trijodtyroninu fT3**, neboť sledujeme přímo množství biologicky aktivních hormonů a toto stanovení není ovlivněno koncentrací transportních bílkovin např. v těhotenství nebo vlivem některých léků.

T4

- stanovení funkce štítné žlázy, zvláště při podezření na hyperfunkci
- monitorování léčby tyroxinem
- screening kongenitální hypotyreózy ze suché kapky krve novorozence

T3

Vyšetření fT3 nepatří k základnímu vyšetření funkčních poruch. Vyšetření indikujeme jen jako doplněk při podezření na hyperfunkci při nejasných laboratorních nálezech nebo ve

speciálních situacích (např. v případě T3-toxikózy, kdy klinické symptomy indikují hypertyreózu, ale stanovení T4 má normální hodnotu). Je nevhodným indikátorem pro testování hypotyreózy: při hypotyreóze může být hladina T3 normální, jelikož štítná žláza ho tvoří přednostně.

Interpretace výsledků

- Při diagnostice hypertyreózy, v případě suprimovaných hladin TSH, znamenají zvýšené hladiny FT4 a FT3 potvrzení diagnózy.
- Při izolované T3 hypertyreóze může být koncentrace FT4 mírně zvýšena.
- K potvrzení diagnózy hypotyreózy při snížených hladinách FT4 a slouží nález zvýšené koncentrace TSH nebo přehnaná odpověď TSH na TRH stimulaci.

Tab. 42 Přehled některých onemocnění se sníženými, normálními či zvýšenými hladinami fT4

Snížená koncentrace fT4	Normální koncentrace fT4	Zvýšená koncentrace fT4
Primární hypotyreóza Kongenitální hypotyreóza Sekundární hypotyreóza	eutyroidní T3 – toxikóza endemická struma	Hypertyreóza T3 Hypofyzární tumor

Tab. 43 Přehled některých onemocnění se sníženými, normálními či zvýšenými hladinami fT3

Snížená koncentrace fT3	Normální koncentrace fT3	Zvýšená koncentrace fT3
Primární hypotyreóza Kongenitální hypotyreóza Sekundární hypotyreóza	Eutyroidní T4 - toxikóza endemická struma	Hypertyreóza T3 toxikóza Hypofyzární tumor

Tyreoidální autoantilátky

*Pokud byl k zobrazení tématu použit hypertextový odkaz v kapitolách 1 – 3, pro návrat do příslušného oddílu prosím použijte navigační panel **Záložky**, umístěný vlevo ve Vašem Adobe Reader prohlížeči.*

Tyreoidální autoantilátky významně ovlivňují funkci štítné žlázy. Jsou vylučovány vlastním imunitním systémem organismu jako sekundární odpověď na poškození buněk štítné žlázy. Jsou zvýšené u autoimunitních onemocnění štítné žlázy, jako jsou Gravesova-Basedowova choroba (G-B), lymfocytická tyreoiditida (typ Hashimoto a primární myxedém), poporodní tyreoiditida a další.

Jedná se o:

- protilátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO);
- protilátky proti tyreoglobulinu (anti-TG);
- protilátky proti TSH receptoru (anti-TSHr, TRAK),

Protilátky proti tyreoidální peroxidáze (anti-TPO) zpomalují či pozastavují činnost tyreoidální peroxidázy (TPO). TPO je enzym nezbytný pro produkci tyreoidálních hormonů. Je lokalizovaný na apikální membráně tymocytů, katalyzuje tvorbu peroxidu vodíku a tím následnou organifikaci jódu a jeho vazbu na tyreoglobulin (TG). Funkce TPO je stimulována TSH. Protilátky anti-TPO korelují s tyreoidálním poškozením a stanovení anti-TPO má větší důležitost pro diagnostiku autoimunitních onemocnění štítné žlázy než stanovení anti-TG.

Protilátky proti tyreoglobulinu (anti-TG) jsou syntetizovány imunocyty při tyreoiditě typu Hashimoto. Tyreoglobulin je glykoprotein a je místem syntézy a také rezervoárem tyreoidálních hormonů T3 a T4. Protilátky anti-TG poškozují tyreoidální tkáň a zabraňují produkci tyreoidálních hormonů - vzniká hypotyreóza. Anti-TG mají menší výpovědní hodnotu než anti-TPO a jejich stanovení se v diagnostice tyreoiditid považuje často za nadbytečné, je však nutné zjistit je před stanovením tyreoglobulinu (převážně v tyreoidální onkologii).

Protilátky proti receptorům tyreotropinu (anti-TSHr, TRAK), obsažených v buněčných membránách buněk štítné žlázy, mohou podle účinku na TSH receptor blokovat nebo stimulovat činnost štítné žlázy. Poskytují informaci o etiologii tyreotoxikózy, jejich hladiny korelují s aktivitou i tíží onemocnění. Stanovení TRAK se indikuje při diferenciální diagnostice hypertyreózy (autoimunitního a neautoimunitního původu, rezistence vůči tyreoidálním hormonům) a sledování jejich léčby. Jsou hlavním markerem Gravesovy-Basedowovy tyreotoxikózy. Remise je provázána poklesem a opětný vzestup těchto protilátek ukazuje na relaps choroby. Vyšetření Anti-TSHR je také indikováno při podezření na endokrinní

oftalmopatii, při komplikovaných formách chronické lymfocytární tyreoiditidy a při všech abnormálních klinických nálezech s podezřením na přítomnost blokujících nebo stimuluujících protilátek. Při sledování dynamiky Gravesovy-Basedowovy choroby postačí frekvence stanovení jedenkrát za 3-6 měsíců.

U fertálních žen s G-B tyreotoxikózou se mohou nacházet cirkulující anti-TSHr i po totální strumektomii a mohou přecházet transplacentárně na plod.

Referenční interval

Anti-TPO 0-20 IU/ml (metoda: RIA, Immunotech)

Anti-TG 0-30 IU/ml (metoda: IRMA, Immunotech)

Interpretace výsledků

Stanovení hladin autoprotilátek anti-TPO patří vedle vyšetření TSH a FT4 k nejdůležitějším diagnostickým parametrům, uplatňují se při diagnostice onemocnění štítné žlázy autoimunitního původu. Stanovení hladin anti-Tg je využíváno pouze v tyreoidální onkologii pro monitoraci léčby nádorů štítné žlázy. Stanovení anti-TSHr se provádí výjimečně.

Stanovení anti-TPO:

- Odlišení autoimunitní příčiny onemocnění štítné žlázy od jiné příčiny
- Poruchy fertility
- Screening poruch štítné žlázy v těhotenství
- Screening poporodní tyreoiditidy

I u části zdravé populace (zvláště u starších žen) jsou detekovatelná malá množství anti-TPO. Naopak, u malého procenta pacientů s autoimunitním onemocněním jsou anti-TPO pod mezí detekce.

Přibližně u 50% žen, které mají pozitivní anti-TPO v časném těhotenství, se vyvine některá forma poporodní tyreoidální dysfunkce. Vysoké hladiny anti-TPO tedy indikují ženy s rizikem poporodní tyreoiditidy.

Literatura

1. Engler H, Riesen WF, Keller B. Anti-thyroid peroxidase (anti-TPO) antibodies in thyroid diseases, non-thyroidal illness and controls. Clinical validity of a new commercial method for detection of anti-TPO (thyroid microsomal) autoantibodies. Clinica Chimica Acta, Volume 225, Issue 2, March 1994, Pages 123-136
2. John R, Spencer CA, Christofides N et al. Thyroid. In: Wild, D. (Ed.) The Immunoassay Handbook. 3rd ed. Elsevier Ltd., 2005.
3. Marek J. Laboratorní diagnostika v endokrinologii. In: Zima T. (ed.). Laboratorní diagnostika. 2.vyd. Galén, 2007, pp 183-228.
4. Roos A, Links TP, de Jong-van den Berg LTW et al. Thyroid peroxidase antibodies, levels of thyroid stimulating hormone and development of hypothyroidism in euthyroid subjects. European J of Int Med, Vol 21(6), Dec 2010, 555-559.

VYUŽITÍ BIOMARKERŮ V GYNEKOLOGII A REPRODUKČNÍ ENDOKRINOLOGII

RNDr. Marie Karlíková, Ph.D.
a kolektiv autorů

Lékařská fakulta v Plzni – Univerzita Karlova v Praze

Technická příprava: Mgr. Petr Šusta
- příprava a editace knih, učebnic, skript, sborníků, apod.
p.susta@seznam.cz

Publikace byla vytvořena za podpory projektů OPVK CZ1.07./2.3.00/09.0142 a
CZ1.07./2.3.00/09.0182.

© Všechna práva vyhrazena.

Vydal Tribun EU, s. r. o.
Cejl 32, 602 00 Brno
Brno 2012

V Tribunu EU vydání první.

ISBN 978-80-263-0410-4